مجله علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۱، نیمسال اول ۱۳۸۸ ، ص ۱۷-۱۰

Journal of Horticultural Sciences
Vol. 23, No. 1, Spring-Summer 2009, P. 10-17

تفاوت عناصر غذایی در پوست سبز پسته‌های زود خندان و سالم و اثرات میزان مواد فنولیک و گالیک اسید در پوست سبز بر روی زهرابه آفلاتوکسین

حسین افشاری[1*] - علیرضا طلایی[2] - مهدی محمدی مقدم[3] - بهمن پناهی[4]

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۲۸
تاریخ پذیرش: ۸۷/۸/۱۲

چکیده

به منظور بررسی نقش عناصر در عارضه زودخندانی و تاثیر مواد فنولیک و گالیک اسید در کنترل زهرابه آفلاتوکسین، از بین ارقام پسته موجود در ایستگاه تحقیقات پسته رفسنجان، در هنگام برداشت محصول از درختان ۳ رقم پسته که بصورت آزاد گرده افشانی شده بودند، میوه‌های ۱۵ خوشه از هر رقم به طور تصادفی جمع آوری و ترکیبات فنولیک کل و مقدار اسید گالیک در پوست سبز پسته تعیین شدند. همچنین از درختان هر رقم تعداد زیادی از هر نوع میوه زودخندان، شکاف نامنظم و سالم جمع آوری و پوست سبز آنها برای تعیین عناصر ماکرو ومیکرو مورد آزمایش قرار گرفتند. این آزمایشات بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و نتایج بدست آمده بر اساس گروهبندی دانکن توسط نرم افزار SAS و Sigma Plot در ۳ تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بیشترین مقدار ازت (۲/۱۵٪) در پوست سبز میوه‌های سالم و کمترین میزان در پوست سبز میوه‌های زودخندان و شکاف نامنظم دیده شد (۱/۹۴ و ۱/۹۷ درصد). بیشترین مقدار منیزیم در پوست سبز میوه‌های سالم و کمترین مقدار منیزیم در پوست سبز میوه‌های زودخندان تعیین گردید (۰/۱۰ درصد). بیشترین میزان مواد فنولیک در پوست سبز میوه‌های رقم اوحدی (۱۳۹۸ mg/100g) و کمترین مقدار (۱۱۳۱ mg/100g) در پوست سبز میوه‌های رقم احمد آقایی بدست آمد. نتایج نشان داد که افزایش مقدار مواد فنولیک سبب کاهش یا مهار تولید زهرا به آفلاتوکسین در میوه پسته می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین، پسته، پوست سبز، مواد فنولیک، گالیک اسید

مقدمه

رشد میوه پسته در باغ با پوست نرم و پوست شاخی مرتبط است. هنگامیکه میوه بالغ می‌شود پوست نرم از پوست سخت جدا شده و شکاف برداشتن پوست سخت برای بازار پسندی میوه مهم می‌باشد(۵). معمولا پوست سبز قبل از برداشت شکاف نمی خورد و مغز را از آفات و آلودگیها محافظت می‌کند. بهر حال گاهی میوه‌هایی که زودخندان نامیده می‌شوند، پوست سبز در امتداد شکاف پوست سخت شکاف بر می‌دارد و مغز را در معرض کپکها قرار می‌دهد. گروه مهمی از مایکوتوکسینها، آفلاتوکسینها هستند که بوسیله آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس تولید می‌شوند(۱۶،۴ و۱۸). در سال ۱۹۷۹ مجتهدی و همکاران آلوده بودن میوه‌های پسته ایران در باغ را گزارش نمودند (۱۴). داستر و میکائیلیدیس طی دو سال عارضه زودخندانی و ارتباط آن با قارچ آسپرژیلوس را بررسی کردند. میوه‌های پسته که پوسته سبز شکاف خورده داشتند به فاصله‌های ۲ هفته علامت گذاری شدند. بسته به باغ ۱۵ تا ۴۸٪ پسته‌های زود خندان ۴ هفته قبل از برداشت و ۳۰-۱۰٪ دو هفته قبل از برداشت تشکیل شده بودند(۵).

شاید عوامل تغذیه‌ای یکی از علل زودخندان شدن برخی میوه‌ها قبل از برداشت باشد(۱، ۲ و ۸).هادوی و همکاران (۸) در بررسی نقش عناصر ماکرو و میکروی موجود در پوست سبز پسته بر زود

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
(* - نویسنده مسئول: Email: afshari2000ir@yahoo.com)
۲- استاد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
۳- محقق ایستگاه تحقیقات پسته دامغان
۴ – استادیار بخش باغبانی، موسسه تحقیقات پسته کشور

خندانی ۳ رقم پسته اکبری، کله قوچی و ممتاز نشان دادند که زودخندان‌ها، میوه‌های طبیعی و میوه‌های دارای شکاف رشد دارای مقادیر مختلفی از عناصر بودند که در بین انواع پوست سبز و ارقام تحت بررسی دیده شد. ارتباط معنی داری در غلظت Mg و Zn بین ارقام و انواع پوست سبز دیده شد. گوگرد معدنی همبستگی معنی‌داری با تاریخ زودخندانی داشت که نشان داد زودخندان‌ها گوگرد کمی دارند. غلظت منیزیم در پسته‌های دارای شکاف رشد بالا بود (۸). بنابراین با شناخت کمبودهای عناصر غذایی که سبب زودخندانی در میوه‌ها می‌شوند و محلول پاشی این عناصر شاید بتوان این عارضه را کنترل نمود. بعید به‌نظر می‌رسد که فرآوری پس از برداشت پسته، بطور کامل رشد میکروارگانیسم‌ها را متوقف کرده و آفلاتوکسین‌ها را کنترل کند(۱۲). بنابراین جستجوی عوامل طبیعی در محصولات که مقاومت به تجمعات آسپرژیلوس و توقف بیوسنتز آفلاتوکسین را موجب می‌شود از راهکارهای مناسب است(۱۱). چنین شیوه‌هایی سبب اطمینان از مصرف محصول شده و در صورت امکان می‌توانند در برنامه‌های انتخاب رقم یا اصلاحی بکار روند(۹). تحقیقات اخیر نشان داده است که میوه‌های گردو نسبت به پسته و بادام آفلاتوکسین زایی کمتری دارند(۱۰). اگر جه گردو پوشش مقاوم تری دارد ما این پوشش بوسیله آفات از بین می‌رود، بنابراین منبع این مقاومت ترکیبات فیتوشیمیایی پوست گردو بجای حفاظ فیزیکی آن است. در یک تحقیق که توسط ماهونی و رودریگوئز انجام شد پسته‌های آلوده به قارچ آسپرژیلوس با پوست نرم و بدون پوست نرم آزمایش شدند. نتایج نشان داد که پسته‌های حاوی پوست سبز سطوح کمتری از آلودگی آفلاتوکسین را دارا بودند(۱۲). خواص آنتی‌اکسیدانی و حذف مایکوتوکسینها توسط مواد فنولیک به‌خصوص وقتی بطور مستقیم در ارتباط با هم قرار گیرند توسط بسیاری از محققین به اثبات رسیده است(۱۵، ۱۸ و ۲۳). خاصیت بازدارندگی ترکیبات فنولیک بر روی آفلاتوکسینها ممکن است بعلت بازدارندگی فعالیت آنزیمها باشد(۱۸). هدف از این پژوهش بررسی نقش عناصر در عارضه زودخندانی و تاثیر مواد فنولیک و گالیک اسید در کنترل عارضه آفلاتوکسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق بر روی سه رقم پسته تجاری ماده شامل کله قوچی، اوحدی و احمد آقایی در سال ۱۳۸۵ در ایستگاه تحقیقات پسته رفسنجان انجام شد.

بررسی عناصر موجود در پوست سبز میوه‌های زودخندان، شکاف نامنظم وسالم

در ۳ رقم پسته کله قوچی، اوحدی و احمد آقایی در زمان برداشت محصول از درختان هر رقم که به صورت آزاد گرده افشانی شده بودند تعداد زیادی از هر نوع میوه زودخندان، شکاف نامنظم و سالم جمع آوری و ۵ گرم پوست سبز در ۳ تکرار برای تعیین عناصر ماکرو ومیکرو مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تعیین عناصر پرمصرف از روش کجلدال (ازت)، اولسن(فسفر) و فلیم فتومتری (پتاسیم) بهره گیری شد. اما در خصوص عناصر فلزی و کم مصرف ابتدا نمونه گیاهی باید بصورت معدنی درآید که از روش خاکستر گیری خشک استفاده گردید. برای این کار یک گرم نمونه پودر شده گیاهی در کوره با دمای ۵۵۰ °C بمدت ۶ ساعت قرار داده شد تا به خاکستر تبدیل گردد. سپس به این خاکستر سفید شده ۱۰ میلی لیتر اسید کلریدریک ۲ نرمال اضافه می‌شود و به مدت نیم ساعت بر روی بن ماری (حمام آب گرم) قرار می‌گیرد و آنگاه این عصاره با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده می‌شود. از این عصاره جهت اندازه گیری پتاسیم، کلسیم، روی، آهن، منگنز، منیزیم و فسفر استفاده می‌شود. برای عنصر کلسیم از طریق فلیم فتومتری و عناصر منیزیم، منگنز، روی و آهن با استفاده از دستگاه جذب اتمی محلولهای استاندارد را تهیه و با توجه به طول موج اختصاصی هر عنصر کالیبراسیون عنصر مورد نظر را تهیه و سپس اقدام به قرائت نمونه‌ها نمودیم (۲ و ۲۱). این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و نتایج بدست آمده بر اساس گروهبندی دانکن توسط نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

بررسی مواد فنولیک موجود در پوست سبز زهرابه و تاثیر آن در مهار زهرا به افلاتوکسین

در هنگام برداشت محصول از درختان هر ۳ رقم پسته که بصورت آزاد گرده افشانی شده بودند، میوه‌های ۱۵ خوشه از هر رقم به طور تصادفی جمع آوری شدند. ترکیبات فنولیک کل و مقدار اسید گالیک که یکی از ترکیبات فنولیک می‌باشد در پوست سبز پسته تعیین شدند. در ضمن مغز میوه‌های موجود در هر خوشه نیز مورد ارزیابی آفلا توکسین قرار گرفتند .

تعیین مواد فنولیک

نمونه‌های پوست سبز هر رقم پسته پس از ۲۴ ساعت نگهداری در آون در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد خشک و سپس آسیاب شدند. ۲/۵ گرم از نمونه‌های آسیاب شده هر رقم به مدت ۶ ساعت در دمای اتاق با مخلوطی از ۱۰ میلی لیتر آب و متانول توسط همزن مغناطیسی عصاره گیری شدند. عصاره از کاغذ صافی و اتمن شماره ۴۲ برای حذف باقیمانده پوست سبز عبور یافتند. باقیمانده‌ها مجدداً با همان حلال عصاره گیری شده و در یخچال نگهداری شدند (۶).

غلظت مواد فنولیک بر طبق روش فولین – سیکالتیو تعیین شد (۲۰). نتایج بر حسب میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه ارزیابی گشت. عصاره‌های پوست سبز پسته در مخلوطی از متانول و

آب حل شدند (به نسبت ۲:۱). ۰/۲ میلی لیتر از نمونه‌ها با ۱ میلی لیتر از محلول فولین ۱۰ برابر رقیق شده و۰/۸ ml کربنات سدیم ۷/۵٪ ترکیب شده و برای ۳۰ دقیقه دردمای اتاق باقی ماندند. جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر UNICAM 8620 در ۷۶۵ nm اندازه گیری شد (۶).

تعیین اسید گالیک موجود در مواد فنولیک

یک آنالیز ۲ مرحله‌ای برای هر مجموعه‌ای از نمونه‌ها درهر مرحله انجام شد. متانول دارای HCL (اسیدی) به ۲۰ mg پوست سبز پسته پودر شده اضافه و در ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت تحت شیکر قرار گرفت .بعد از سردشدن، ۲۰۰µl از محلول تحت N_2 در ۴۰ درجه سانتیگراد تبخیر گردید تا خشک گردد. سپس در ۱ ml متانول حل و از فیلتر سرنگی نایلونی با ضخامت ۰/۲ µm عبور داده شد. ۱۰µlاز محلول برای شناسایی متیل گالات با HPLC (High performance liquid chromatography) فاز معکوس در یک ستون c18 با ابعاد۲۵۰ mm × ۴/۶ mm استفاده گردید.

(لازم به ذکر است متیل گالات یک فرم استری از اسید گالیک است که در اثر متیله شدن ترکیبات پوست سبز پسته با متانول اسیدی بدست می‌آید). فاز متحرک بصورت گرادیانی از آب خالص (۱۰۰٪) حاوی ۰/۳٪ TFA تا متانول ۱۰۰٪ با سرعت جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه در ۲۵ دقیقه بود(۹ و ۱۹).

تعیین میزان آفلاتوکسین مغز ۳ رقم پسته

نمونه‌های مغز هر خوشه پسته بطور مجزا تحت ارزیابی مقدار آفلاتوکسین قرار گرفتند. ابتدا نمونه‌های پسته به صورت مجزا به مدت ۲۴ ساعت داخل آون با درجه حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. سپس نمونه خشک شده داخل مخلوط کن شیشه‌ای ریخته شد و همزمان به آن آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه با دور تند مخلوط گردید تا یک خمیر همگن بدست آمد. در مرحله بعد ۵ گرم نمک طعام خالص به ۵ گرم از خمیر حاصل افزوده شد و همراه با ۷۵ میلی لیتر مخلوط متانول – آب (۹۳-۷) داخل همزن ضد انفجار بمدت یک دقیقه با دور تند مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد. بعد از آن ۳/۱ میلی لیتر از عصاره حاصل با ۹/۹ میلی لیتر آب دیونیزه رقیق شده و ۱۲ میلی لیتر از عصاره رقیق شده از ستونهای (AFLatest TM affinity column) عبور داده شد. پس از شستشوی ستون با ۲۰ ml آب دیونیزه برای جدا سازی آفلاتوکسین از ستون، ۱/۵ میلی لیتر متانول HPLC به آن افزوده گردید و حجم محلول نهایی با استفاده از آب دیونیزه به ۳ میلی لیتر رسانده شد. سپس به منظور تعیین غلظت آفلاتوکسین ۲۰۰ میکرولیتر از این عصاره به دستگاه HPLC که با استفاده از استانداردهای B_1، B_2، G_1، G_2 کالیبره شده بود با شرایط زیر تزریق گردید (۲ و ۷).

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا و نتایج بدست آمده بر اساس گروهبندی دانکن با نرم افزار SAS و Sigma Plot تجزیه و تحلیل شد.

نتایج و بحث

بررسی عناصر موجود در پوست سبز میوه‌های زودخندان، شکاف نامنظم و سالم در سه رقم میوه پسته کله قوچی، اوحدی و احمد آقایی

براساس اطلاعات حاصل از تجزیه واریانس موجود در جدول ۲ و ۱ مقدار عناصر فسفر، پتاسیم، کلسیم، آهن، روی و بور هر کدام در سطح ۱٪ دارای اختلاف معنی دار آماری در پوست سبز میوه بین ۳ رقم پسته می‌باشند. عناصر ازت و منیزیم هر کدام در سطح آماری ۵٪ در پوست سبز میوه‌های سالم، زودخندان و دارای شکاف رشد (شکاف نامنظم) متفاوت بودند. بیشترین مقدار ازت (۲/۱۵٪) در پوست سبز میوه‌های سالم و کمترین میزان در پوست سبز میوه‌های زودخندان و شکاف نامنظم دیده شد (۱/۹۴ و ۱/۹۷ درصد) (جدول ۳). بیشترین مقدار منیزیم (۰/۱۲ درصد) در پوست سبز میوه‌های سالم و کمترین مقدار منیزیم در پوست میوه‌های زودخندان تعیین شد (۰/۱۰ درصد) در خصوص کلسیم نیز بیشترین مقدار در میوه‌های سالم دیده شد (۱۷ و ۱٪) (جدول ۳).

بخش مهمی از پروتوپلاسم و بخش عمده‌ای از آنزیم‌ها و کاتالیزورهای افزایش دهنده سرعت فرآیندهای متابولیسمی گیاه را ازت تشکیل می‌دهد. در ساختمان نوکلئوپروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، قندهای آمینه، پلی پپتیدها و ازت وجود دارد. کلروفیل نیز یک ترکیب ازت دار است. ترکیبات غیر پروتئینی ازت دار مانند سلولز و پکتین که از نظر بیولوژیکی خیلی فعال نیستند اما در دیواره غشا سلولی و جهت استحکام بافتها بکار می‌روند، نقش مهمی را در ساختمان گیاه بر عهده دارند (۱ و ۱۳). بنابراین شکاف پوست میوه‌های زودخندان و به دنبال آن میوه‌های شکاف نامنظم می‌تواند به دلیل کمبود ازت روی دهد. از آنجائیکه هر نوع استرس زنده یا غیر زنده متوجه پوست میوه می‌باشد، بنابراین نیاز به ایجاد مقاومت در پوست سبز پسته محسوس است و مقاومت پوست به طور متقابل به دیواره سلولی و پلیمرهای سازنده آن بر می گردد. از طرفی میزان و قدرت میوه به طور عمده بوسیله پوست تعیین می‌شوند. به همین دلیل آنزیم‌های دیواره سلولی کنترل کننده رشد میوه باید در این قسمت متمرکز شوند(۲۴).

جدول (۱) تجزیه واریانس عناصر مور اندازه گیری در پوست سبز پسته

منبع تغییرات	درجه آزادی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	کلسیم	منیزیم	آهن	روی	بر
تیمار	۲	۰/۳۵۶۲**	۰/۰۱۱۰**	۰/۷۳۹۸*	۰/۸۹۸۵**	۰/۰۰۰۷۴**	۵۶۵۳/۵۵**	۱۵/۷۴۸۸**	۱۷۰۹۸/۲۹**
خطای آزمایش	۶	۰/۰۴۸۸۸**	۰/۰۰۱۶^{ns}	۰/۳۰۵۰*	۰/۵۸۰۰*	۰/۰۰۱۳۳**	۴۵/۷۷^{ns}	۱/۳۷۷۷^{ns}	۵۹۹/۷۷^{ns}
خطای نمونه گیری	۱۸	۰/۰۲۶۶	۰/۰۱۲۰	۲/۹/۶۸	۰/۰۳۲۹۶	۰/۰۰۱۹۹۸	۴۱۷/۳۳	۳۱/۴۵۳۳	۱۰۲۲۴/۰۰
خطای کل	۲۶	۰/۴۳۱۶	۰/۰۲۴۷	۳/۹۵۱۷	۲/۰۷۱۸	۰/۰۰۴۰۷	۶۱۱۶/۶۶	۴۸/۵۸۰۰	۲۷۹۲۲/۰۷
CV		۸/۰۵	۱۲/۴۱	۵/۳۷	۱۶/۹۰	۹/۱	۶/۸۵	۱۱/۷۶	۱۱/۶۷

(جدول ۲)- بررسی میزان عناصر در پوست سبز ۳ رقم میوه پسته

	عنصر						
رقم	B(ppm)	Zn(ppm)	Fe(ppm)	Ca(%)	K(%)	P(%)	N(%)
احمدآقایی	۱۸۱/۷۷ ^{b}	۱۲/۰۲ ^{a}	۵۲/۵۵ ^{c}	۱/۳ ^{a}	۷/۵ ^{a}	۰/۱۸ ^{b}	۱/۹ ^{b}
کله قوچی	۱۹۱/۴۴ ^{b}	۱۱/۴۷ ^{a}	۸۸ ^{a}	۱ ^{b}	۷/۵ ^{a}	۰/۲۲ ^{a}	۲ ^{b}
اوحدی	۲۳۹/۳۳ ^{a}	۱۰/۲۰ ^{b}	۷۰/۱۱ ^{b}	۰/۸۸ ^{b}	۷/۲ ^{b}	۰/۲۲ ^{a}	۲/۱ ^{a}

اعداد هر ستون با هم مقایسه شده اند. اعداد دارای حروف مشابه اختلاف معنی دار آماری ندارند(α=٪۱)

جدول (۳)- بررسی میزان عناصر ازت و منیزیم در پوست سبز ۳ نوع میوه پسته

	عنصر		
نوع میوه	Mg	Ca(%)	N(%)
سالم	۰/۱۲ ^{a}	۱/۱۷ ^{a}	۲/۱۵ ^{a}
زود خندان	۰/۱۰ ^{b}	۱/۰۹ ^{b}	۱/۹۴ ^{b}
شکاف رشد	۰/۱۲ ^{a}	۱/۱۲ ^{b}	۱/۹۷ ^{b}

اعداد هر ستون با هم مقایسه شده اند. اعداد دارای حروف مشابه اختلاف معنی دار آماری ندارند(α=٪۱)

در هنگام رسیدن میوه‌ها میزان پروتئین پکتین متیل استراز (PME) و mRNA افزایش می‌یابد و نمونه‌های سالم و زودخندان از لحاظ این آنزیم تفاوت دارند. در پوست نرم نمونه‌های سالم این آنزیم فعالتر و منجر به حلالیت بیشتر پکتین‌ها می‌شود که منجر به کاهش ویسکوزیته ترکیبات ماتریسی شده و پوست نرم در مقابل فشار وارده از طرف پوست استخوانی خاصیت کشسانی و الاستیسیته بیشتری پیدا می‌کند. در مقابل پوست نرم دانه‌های زودخندان در نتیجه فعالیت کمتر این آنزیم و حلالیت کمتر پکتین‌ها یا رسوب بیشتر پکتین‌ها در دیواره، در مقابل فشار حساس هستند (۱). تایمن وهانادا نشان دادند که فعالیت PME در پریکارپ میوه‌های گوجه فرنگی که ژن انتقال پیدا کرده بود تجمع و تقسیم‌بندی کاتیونها را به شکل محلول و باند شده تغییر داد و از بین آنها تجمع Mg^{2+} را بیشتر از سایر کاتیون‌های دیگر مختل نمود (۲۴). منیزیم در تعداد بیشماری آنزیم‌های گیاهی نقش فعال کننده دارد و در این مورد می‌توان اثر منیزیم را در فعال کردن حامل‌های فسفری که در جذب عناصر دخالت دارند نام برد. (۱۳). نتایج مربوط به تغییرات منیزیم در پوست میوه‌های پسته زودخندان با نتایج تایمن و همکاران در مورد تغییرات منیزیم در میوه‌های گوجه فرنگی تراریخته همخوانی دارد، به طوری‌که فعالیت پایین PME در پوست نمونه‌های زودخندان تقسیم بندی اشکال محلول و باند شده Mg^{2+} را در آن تغییر می‌دهد. در میوه‌های طبیعی، کاهش در فعالیت پوست برای نگهداشتن کاتیون‌های ۲ ظرفیتی در زمان بلوغ میوه دیده می‌شود که علت آن حلالیت پذیری زیاد پکتین‌ها در دیواره سلولی در این زمان است (۱۳ و ۲۴). تجزیه پکتین‌ها توسط آنزیم پلی گالاکتوروناز و کاهش Ca و Mg در نرم شدن میوه نقش دارند. به طوریکه ایجاد این تغییرات در پوست نمونه‌های سالم نسبت به پوست نمونه‌های زودخندان باعث نرم شدن بیشتر و ویسکوزیته کمتر پلیمرهای دیواره سلول پوست شده و در برابر فشارهای وارد شده از سوی پوسته استخوانی انعطاف بیشتری از خود نشان می‌دهد. در مقابل، پوست نمونه‌های زودخندان در نتیجه فعالیت کمتر پکتین متیل استرازها (PME) و به دنبال آن پلی گالاکتوروناز (PG) تا حدودی از نرمی پوست کاسته شده و به علت ویسکوزیته بالاتر، مواد دیواره در برابر فشارهای موجود دچار پارگی می‌شود (۱). برخی نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج دهجی پور و همکاران مطابقت می‌نماید (۱).

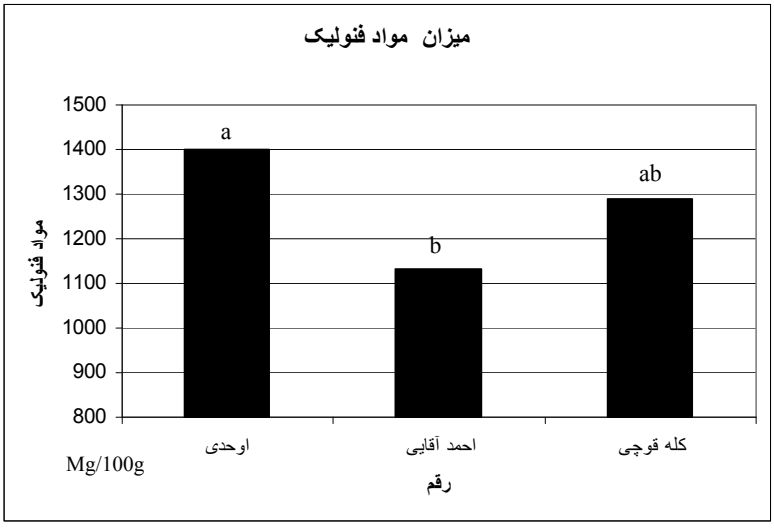
بررسی مواد فنولیک موجود در پوست سبز ۳ رقم پسته کلـه قـوچی، اوحدی و احمد آقایی و تأثیر آنها در مهار زهرا به آفلاتوکسین

بر اساس نتایج تجزیـه واریـانس و شـکل شـماره ۱ مقـدار مـواد فنولیک در پوست سبز میـوه‌هـای آزمـایش شـده سـه رقـم پـسته از اختلاف معنی دار آماری در سـطح ۵٪ برخـوردار مـی‌باشـد. امـا ایـن اختلاف در اسید گالیک نمونه‌های آزمایش شده این ۳ رقم دیده نشد.

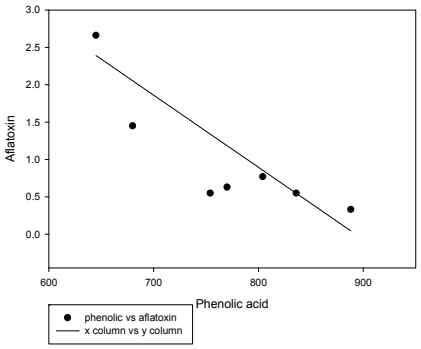
مطابق شکل(۲) از بین کلیه خوشه‌های پسته‌ای که مواد فنولیک پوست آنها اندازه گیری شده بـود، تنهـا در مغـز میـوه‌هـای ۷ خوشـه مقداری زهرا به آفلاتوکسین شناسـایی شـد. و بـه داده‌هـای حاصـل (۷نقطه) از تابع خطی به فرمول y= ۸/۶۱۴۹ – ۰/۰۰۹۶ x بـرازش داده شد. مشاهده شد که با افزایش میـزان مـواد فنولیـک نمونـه‌هـا، میزان آفلاتوکسین با تبعیت از تابع خطی ذکر شـده کـاهش مـی‌یابـد (R^2 = ۰/۸۷). یعنی با اطمینـان ۸۷٪ اگـر نقطـه‌ای کـه عـدد مـواد فنولیک دارد جای x در شکل (۲) بگذاریم میزان آفلاتوکسین نمونه را برآورد می‌کند .براساس شکل(۳) پراکنش نقاط رابطه آفلاتوکـسین در مقابل بـا اسـید گالیـک از رونـد مشخـصی تبعیـت نمـی‌کنـد و تـابع مشخصی هم با آن برازش داده نشد .

تعدادی از قارچها بخصوص آسپرژیلوس و پنسیلیوم توانایی رشـد در محیط حاوی مواد فنولیک را به عنوان تنها منبع کربن داشته وحتی توانایی کشت در سطوح بالای مواد تاننی را دارند. در بین این قارچهـا یک آنزیم قارچی از آسپرژیلوس فـلاووس نـژاد IF05839 اسـتخراج شده است (۹).

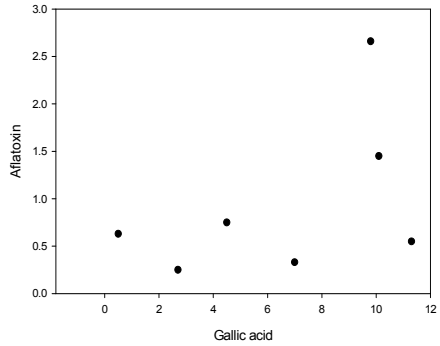
این آنزیم قارچی خارج سلولی زنجیرهای استری در تانیک اسـید، گلوکز ۱ گـالات و متیـل گـالات را بـه ترتیـب هیـدرولیز مـی‌نمایـد. تانن‌های قابل هیدرولیز شامل یک کربوهیدرات مانند گلـوکز اسـتری شده با حلقه گالیک اسید یا هگزاهیدروکسی دیفنیک اسید که سـاختار سـاده‌ای دارد مـی‌باشـند. ممکـن اسـت پیچیـدگی بیـشتر از اتـصال زنجیرهای اضافی حلقه‌های اسید گالیک با اسیدهای استری اولیه بـه دست آید. والیگومرها می‌تواننـد از جفـت شـدن اکـسید اتیومونومرهـا بدست آیند. وجود آنزیم قارچی بین سـلولی احتمـالاً بـرای دسترسـی قارچ به حلقه گلوکز تانن‌ها که جهت تغذیه قارچ آسپرژیلوس فلاووس مفید است، لازم می‌باشد. توانایی قارچ برای هیدرولیز تـانن‌هـا نـشان می‌دهد که یک یا چنـد ترکیـب هیـدرولیزی وجـود دارنـد کـه تولیـد آفلاتوکسین را متوقف می‌کنند (۹). کری و همکاران در تحقیقاتـشان نشان دادند که بیوسنتز آفلاتوکسین توسط تانن‌های قابل هیـدرولیز از جمله گالیک اسید موجود در پوست سـبز پـسته بازداشـته مـی‌شـود و آنـزیم Fungal Tannase مـسئول بازداشـتن آفلاتوکـسین اسـت. همچنین ایشان بیان نمودند که کشت قارچ بر روی محیط‌های حاوی تانیک اسید (TA) رشد آن را کاهش داد (۳). ماهونی و همکاران نیـز با آغشته کردن میوه پسته همراه با پوست سبز و بدون پوست سبز بـا قارچ آسپرژیلوس فلاوس نشان دادند که تنها مواد فنولیک موجـود در پوست سبز میوه پسته در کاهش مقدار آفلاتوکسین مؤثر بـود و ایـن عمل مواد فنولیک به دلیل تأثیر آنها بر فعالیت آنـزیم مـی‌باشـد (۱۱). اثر مواد فنولیک موجود در پوست سبز میوه‌های ۳ رقم این تحقیق در بازدارندگی آفلاتوکـسین بـا تحقیقـات عـده‌ای از محققـین مطابقـت می‌نماید (۱۱ و ۲۰).



(شکل ۱)- بررسی میزان مواد فنولیک در پوست سبز میوه ۳ رقم پسته



(شکل ۲) - رابطه آفلاتوکسین مغز با مواد فنولیک پوست سبز پسته



(شکل ۳) - رابطه آفلاتوکسین مغز با گالیک اسید پوست سبز پسته

منابع

۱- دهجی پور م. ۱۳۸۰. بررسی تغییرات پکتینی و آنزیمی دیواره سلولی دراثنای بروز عارضه پارگی زودرس درمیوه پسته. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس.

۲- هادوی ا. ۱۳۸۴. مطالعه روشهایی برای بهبود کیفیت پس از برداشت محصول پسته. پایان نامه دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران.

3- Cary J.W., Harris P.Y., Mahoney N.E. and Molyneux R.J. 2004. Inhibition of aflatoxin biosynthesis by tannic acid. Proceeding of 4 th annual fungal genomics, 17 th annual aflatoxin elimination work shop. California.

4- Doster M.A., and T.J. Michailides. 1995. The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by Aspergillus species. Journal of Plant Disease, 79:766-769.

5- Doster, M. A., and T.J. Michailides. 1995. The development of early split pistachio nuts and their contamination by molds aflatoxins, and insect. First international symposium on pistachio nut, Acta Horticultuae 419,359-364.

6- Goli A.H., Barzegar M., and Sahari M.A. 2005. Antioxidant activity and total phenolic compound of pistachio *(Pistacia vera)* hull extracts. Journal of Food Chemistry, 92(3):521-525.

7- Gourma H., l.B. Bullerman. 1995. *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, Aflatoxigenic fungi in food and feed. Journal of Food Protection, 58(12):1305-1404.

8- Hadavi E. 2005. Several physical properties of aflatoxin-contaminated pistachio nuts: Application of BGY fluorescence for separation of aflatoxin-contaminated nuts. Journal of Food Additive and contaminants, 22(11): 1144- 1153.

9- Mahoney N., and R.J. Molyneux. 2004. Phytochemical inhibition of aflatoxigenicity in aspergillus flavus by constituents of walnut (*juglans regia*). Journal of Agricultural Food Chemistry, 52:1882-1889.

10- Mahoney N., Molyneux R.J., and Schatzki T.F. 2003. Resistance of "Tulare" walnut to aflatoxigenesis. Journal of Food Science, 68:619-622.

11- Mahoney N., Molyneux R., and Campbell B. 2002. Reduction of aflatoxin contamination in pistachio kernels by hydrolysable tannins in the hull. Proceeding of the 2nd fungal genomic, 3rd fumonisim elimination and 15th aflatoxin workshop, San Antonio, Texas.

12- Mahoney N. and S.B. Rodriguez. 1996. Aflatoxin variability in pistachios. J. Applied and environmental microbiology, P:1197- 1202.

13- Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic press. London. P. 116 – 386.

14- Makkar H.P.S, Goodchild A.V., El-Moneim A.M.A. 1996. Cell-constituents. Tannin levels by chemical and biological assays and nutritional valueof some legume foliage and straws. J. Sci. Food Agric. 71, pp. 129-136

15- Mojtahedi H., Rabie C.J., Lubben A., Steyn M., and Danesh D. 1979. Toxic aspergilli from pistachio nuts. Mycopathologia, 67: 123-127.

16- Molyneux RJ, Mahoney N, Kim H, Campbell BC. 2007. Mycotoxins in edible tree nuts. International of food microbiology, 119 (1-2): 72-78

17- Ossipov V., and et al. 2003. Gallic acid and hydrolysable tannins are formed in birch leaves from and intermediate compound of the shikimate pathway. Journal of Biochemical Systematic and Ecology, 31:3-16.

18- Pearson T.C., Slaughter D.C., and Studer H.E. 1994. Physical properties of pistachio nuts. Transactions of the ASAE, 37(3):913-918.

19- Polewski K., Kniat S., and Slawinska D. 2002. Gallic acid, a natural antioxidant, in aqueous and micellar environment: spectroscopic studies. Journal of Current Topics in Biophysics, 26(2):217-227.

20- San, R. H. C. and R. I. M. Chan. 1987. Inhibitory effect of phenolic compounds on aflatoxin B1 metabolism and induced mutagenesis. Mutation Research Journal, 177(2):229-239.

21- Shahidi- bonjar G.H. 2004. Incidence of aflatoxin producing fungi in early split pistachio nuts of Kerman Iran. Journal of biological science, 4(2):229- 239.
22- Singh R.P., Marthy K.N.C., and Jayaprakasha G.K. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and extracts using in vivo models. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:82- 86.
23- Tekin H., Akkok F., Kuru C., and Genc G. 1995. Determination of nutrient content of *Pistacia vera L*. and assessment of the most suitable leaf collection time. Acta Horticulturae, 419:64-69.
24- Tieman D.M., and Handa A.K. 1994. Reduction in pectin methyl esterase activity modifies tissue integrity and cation levels in ripening tomato fruit. Journal of Plant Physiology, 106:429- 436.
25- Vazquez – Barrios, ME, Martinez – Poniche R, Fernandez – Escartin E. 2001. Developmemt of toxigenic *Aspergillus* tavus and *A. parasiticus* on kernels of native pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] genotypes under different water activities. Scientia Horticulturae, 89(2):155-169
26- Yalpani M., and Tyman H.P. 1983. The phenolic acids of *Pistacia vera*. Phytochemistry, 22(10):2263- 2266.

Journal of Horticultural Sciences
Vol. 23, No. 1, Spring-Summer 2009, P. 10-17

مجله علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۳، شماره ۱، نیمسال اول ۱۳۸۸، ص ۱۷-۱۰

Differences of elements in early splitting of pistachio nuts and the effect of phenolic compounds and gallic acid on rate

H. Afshari[*] - A. Talaie – M. Mohammadi Moghadam – B. Panahi[1]

Abstract

In order to study the effect of elements in early splitting and the effect of phenolic compounds and Gallic acid in control of aflatoxin, an experiment was conducted in Rafsanjan pistachio research station. At harvest, from the trees of 3 pistachio's varieties(Ahmadaghaii, Kalehghuchi, Ohadi) 15 clusters in each variety collected as randomized and phenolic compounds and Gallic acid in hulls were determined. From all varieties, many fruits of each type such as early split, cracked and true fruits collected and their hulls examined for macro and micro elements. These experiments were performed in 1385 according to complete randomized design and results analyzed in 3 replications by Duncan test with SAS and Sigma plot soft wares. Highest rate of Nitrogen (2.15%) in the intact fruit hulls and lowest rates was in early split and cracked fruit hulls (1.94 & 1.97%). Highest rate of Mg (0.13%) was in the intact fruit hulls and lowest rates were in early split pistachio hulls (10%). Maximum rates of phenolic compound determined in the fruit hulls of Ohadi variety (1398mg/100gr) and the minimum rates measured in the fruit hulls of Ahmadaghaii 1131 mg/100g. Results showed that increase rates of phenolic compound caused to reduction or prevention of aflatoxin in the pistachio's fruits.

Key Words: Aflatoxin, Pistachio, Hull, Phenolic compound, Gallic acid

(*- Corresponding author Email: afshari2000ir@yahoo.com)
1- Contribution from Islamic Azad University Damghan branch, University of Tehran , Pistachio Research Station, Damghan and Pistachio Research Institute, Rafsanjan respectively