الكشف عن مدى تلوث ثمار طرز مختلفة من الفستق الحلبي بالأفلاتوكسينات بطريقة الميتانول–ماء باستخدام جهاز الـــكروماتوغرافي السائل عالي الأداء

نجوى متعب الحجار وبيان محمد مزهر

الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، السويداء، سورية، البريد الإلكتروني: Najwa81hj@yahoo.com

الملخص

الحجار، نجوى متعب وبيان محمد مزهر. 2016. الكشف عن مدى تلوث ثمار طرز مختلفة من الفستق الحلبي بالأفلاتوكسينات بطريقة الميتانول–ماء باستخدام جهاز الـــكروماتوجرافي السائل عالي الاداء. مجلة وقاية النبات العربية، 34(2): 142–147.

نفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث السويداء، للكشف عن مدى تلوث 13 طرازاً من الفستق الحلبي (Ash.1، Ash.2، Ash.3، Ash.4، Ash.5، Ash.6، Bat.1، Bat.2، Ajami.1، Ajami.2، Beadi.1، Turki.1 و Turki.2) بالمقارنة مع عينة تجارية من الفستق الحلبي المبشور بالأفلاتوكسينات، حيث تم الاستخلاص باستخدام طريقة الميتانول–ماء وقدرت الكمية باستخدام جهاز الـــكروماتوجرافي السائل عالي الأداء (HPLC). بينت النتائج تلوث 4 طرز منها بالأفلاتوكسينات بالإضافة إلى العينة التجارية وبخاصة الأفلاتوكسين B1 إذ تراوحت كميته في حدود 0–9.06 ميكروغرام/كغ وتركز بدرجة رئيسة في الطراز Ash.5، إضافة إلى تلوثه بالأفلاتوكسين B2 (1.634 ميكروغرام/كغ). ارتبط التلوث بالأفلاتوكسينات بعدة عوامل منها: حساسية الطرز للإصابة بالآفات الحشرية والمرضية المختلفة، التشقق المبكر للثمار بالإضافة إلى عدم تطبيق الإدارة الزراعية الصحيحة في الحقول. كما بينت نتائج الدراسة وجود ثلاثة أنماط من الأفلاتوكسينات في العينة التجارية من الفستق المبشور هي B1 (19.48 ميكروغرام/كغ)، B2 (3.92 ميكروغرام/كغ) و G1 (0.85 ميكروغرام/كغ) بفروقات معنوية عند مستوى ثقة 99% مع كافة طرز الفستق الحلبي المدروسة. وصلت النسبة المئوية للعينات المصابة في طرز الفستق الحلبي إلى 30.77% عند حفظ الثمار لمدة ثلاثة أشهر دون تعقيم بالإضافة إلى تلوث العينة التجارية المدروسة. أثبتت النتائج الكفاءة العالية لجهاز HPLC في تقدير مدى تلوث ثمار الفستق الحلبي بالأفلاتوكسين.

كلمات مفتاحية: أفلاتوكسين، *Pistacia vera*، التشقق المبكر، سورية.

المقدمة

تعد الأفلاتوكسينات من مجموعة السموم الفطرية وهي سلاسل استقلاب ثانوية ناتجة عن أنواع مختلفة من الجنس *Aspergillus* spp. (15)، بشكل خاص النوعين *A. flavus* و *A. parasiticus* (28). تُنتج هذه المركبات في المحاصيل النباتية عند تلوثها بهذه الفطوري (21). هناك العديد من أنماط الأفلاتوكسينات منها M1، G2، G1، B2، B1 و M2 (9). إن النواتج الأيضية الثانوية للفطور أو مايسمى بالسموم الفطرية هي مركبات نشطة بيولوجياً، إضافة لكونها مطفرة ومسرطنة (5). توجد الأفلاتوكسينات في العديد من الأنواع النباتية مثل ثمار النقل، الأرز، القمح والشعير وغيرها من الأنواع النباتية (23). وبالرغم من شيوع مشكلة التلوث بالأفلاتوكسينات في المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية بسبب ارتفاع درجة الحرارة و الرطوبة النسبية (3، 5)، إلا أنه وجدت أيضاً في المناطق المعتدلة من أوروربا وشمال أمريكا (12، 13). صنفت الأفلاتوكسينات على أنها الأكثر سمية وخطورة في إحداث السرطانات (27) ويعد النمط B1 أكثرها خطورة (16). إذ أن احتواء الطعام على كميات قليلة من الأفلاتوكسينات يهدد صحة البشر (18). وقدرت منظمة الفاو أن 25% من المحاصيل النباتية وثمار النقل (خاصة ثمار الفستق الحلبي) ملوثة بمنتجات السموم الفطرية وبخاصة الأفلاتوكسينات (26). حددت المنظمات الدولية المستويات القصوى المسموح بها في المواد الغذائية التي بلغت مقدارها 20 ميكروغرام/كغ في الولايات المتحدة الأمريكية و 4 ميكروغرام/كغ في أوروبا بينما تحددت القيمة القصوى للأفلاتوكسين B1 بـــ 2 ميكروغرام/كغ فقط (8). بسبب الخطورة العالية لمحتوى الأفلاتوكسينات في الطعام، فإنه من الضروري جمع البيانات لاحتمالية وجود هذه السموم في ثمار الفستق الحلبي لكونها ذات قيمة غذائية عالية (23)، إذ أن تلوث ثمرة واحدة من الفستق الحلبي بالأفلاتوكسينات بمعدل 60000 ميكروغرام/كغ تؤدي إلى تلوث ما يعادل 4.5 كغ (3.000 ثمرة من الفستق الحلبي) (21). ونظراً

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-034.2.142147
© 2016 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

لأهمية شجرة الفستق الحلبي كمصدر رئيس للغذاء على مستوى العالم واستجابته للتلوث بالأفلاتوكسينات (6)، فقد هدفت الدراسة إلى تقدير مدى تلوث ثمار طرز مختلفة من الفستق الحلبي بالأفلاتوكسينات B1، B2، G1، G2 بعد تخزينها لمدة ثلاثة أشهر باستخدام جهاز الـــ HPLC بطريقة الميتانول–ماء مقارنة مع عينة تجارية من الفستق المبشور.

مواد البحث وطرائقه

نفذ البحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث السويداء، وأجريت التحاليل في مختبر التحاليل الكيميائية التابع لمديرية التجارة الداخلية وحماية المستهلك. وجمعت عينات الثمار من حقول المزارعين في مناطق انتشار الفستق الحلبي في محافظة السويداء (منطقتي العفينة والسهوة).

المادة النباتية

شملت الدراسة 13 طرازاً وراثياً لأصناف مختلفة من الفستق الحلبي تتميز بالمواصفات التالية:

- Ash.1– أبعاد الثمرة 2.58×1.45×1.36 سم، نسبة التشقق 74%، القشرة الخارجية تغلف الثمرة بشكل كامل،
- Ash.2– أبعاد الثمرة 2.39×1.61×1.5 سم، نسبة التشقق 83%، القشرة الخارجية متينة وسميكة وتغلف الثمرة بشكل كامل،
- Ash.3– أبعاد الثمرة 2.7×1.5×1.5 سم، نسبة التشقق 96%، القشرة الخارجية متينة وسميكة وتغلف الثمرة بشكل كامل،
- Ash.4– أبعاد الثمرة 2.58×1.42×1.38 سم، ونسبة التشقق 50%، القشرة الخارجية تغلف الثمرة بشكل كامل،
- Ash.5– أبعاد الثمرة 2.7×1.4×1.3سم، نسبة التشقق 61%، يتميز بحساسيته المرتفعة للإصابة بالأمراض والآفات مثل لفحة المونيليا *Monilia pistaceae zaprom*، *Botryosphaeria* spp. ، دبور ثمار الفستق الحلبي *Eurytoma plotnikoru* وغيرها،
- Ash.6– أبعاد الثمرة 2.6×1.45×1.35سم، ونسبة التشقق 75%، يتميز بظاهرة التشقق المبكر في الثمار، وتحلل القشرة الخارجية قبل النضج بفترة تتراوح بين 3–4 أسابيع،
- Bat.1– أبعاد الثمرة 3×1.58×1.56 سم، ونسبة التشقق 60%، القشرة الخارجية متينة وسميكة وتغلف الثمرة بشكل كامل،
- Bat.2– أبعاد الثمرة 2.7×1.52×1.49سم، نسبة التشقق 24%، يتميز بظاهرة التشقق المبكر في الثمار قبل النضج بفترة تتراوح بين 3–4 أسابيع،
- Ajami.1– أبعاد الثمرة 2.63×1.53×1.47 سم، ونسبة التشقق 40%، يتميز بحساسية متوسطة إزاء العديد من الآفات المرضية والحشرية،
- Ajami.2– أبعاد الثمرة 2.65×1.55×1.5 سم، ونسبة التشقق 78%، القشرة الخارجية تغلف الثمرة بشكل كامل،
- Turki.1– أبعاد الثمرة 2.6×1.44×1.44سم، ونسبة التشقق <20%، يتميز بكبر حجم العنقود الثمري،
- Turki.2– أبعاد الثمرة 2.3×1.3×1.27 سم، ونسبة التشقق <15%،
- Bead.1– أبعاد الثمرة 2.43×1.5×1.4سم، نسبة التشقق 45%، تتميز الثمار بصلابة الغلاف الخشبي.

وشملت الدراسة أيضاً عينة تجارية (commercial) من الفستق الحلبي المبشور تم الحصول عليها من السوق المحلية وهي مخزنة لمدة ثلاثة أشهر دون تعقيم عند 4° س، وذلك للمقارنة مع الأصناف والطرز الوراثية المدروسة.

تحضير العينات

جمعت الثمار في نهاية شهر آب/أغسطس بعد النضج، وتم تقشيرها دون تعقيم وتجفيفها عن طريق تعريضها لأشعة الشمس المباشرة ضمن طبقات رقيقة لحين أصبح المحتوى المائي للثمرة 5–6%. خزنت الثمار عند 4° س ورطوبة نسبية 65–70% دون تعقيم لمدة ثلاثة أشهر (4، 5) ، ثم أخرجت الثمار تباعاً عند انتهاء الفترة المحددة للتخزين. تم طحن الثمار واستخلاص الأفلاتوكسين باستخدام طريقة ميتانول– ماء (V/V, 1/4) (20)، حيث تم وزن 20 غ من ثمار كل طراز وأضيف لها 2غ من كلوريد الصوديوم، أضيف الميتانول – ماء (V/V, 1/4) و 50 مل من الهكسان العادي (ن–هكسان). رشح المزيج بعد الطحن إذ انفصل إلى طورين، أخذ 14 مل من الطور السفلي وهو الميتانول–ماء، وأضيف لها 86 مل من محلول الـــ PBS (جدول 1). استخدمت أنابيب AflaCLEAN™ (3 مل)، تم تفريغ السائل منها باستخدام التفريغ الهوائي وتمرير 30 مل من العينة المراد اختبارها، وغسلت بـــ 10 مل من الماء المقطر ثم أضيف لها 1مل من الميتانول لتفكيك الروابط بين جزيئات الأفلاتوكسين وتركت لمدة 5 دقائق، كما أضيف 1 مل من الميتانول عبر الإنبوب لتصبح الكمية النهائية 2 مل، أخذ منها 50 ميكروليتر وحقنت في جهاز الـــ HPLC، بالإضافة إلى حقن المركب القياسي ضمن التراكيز المحددة في جدول 2.

الفصل باستعمال جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء (HPLC)

تم الاعتماد على طريقة Seitz و Mohr (24) مع بعض التعديلات. استعمل عمود الفصل من نوع PICKERING 4.6mm * 250mm،

C18 (رقم الكاتلوك 1612124)، والطور الحامل ماء/ميتانول/حامض الخليك (V/V, 15/30/60)، بمعدل سرعة جريان 1.2 مل/د وبطول موجة 365 نانوميتر بكاشف الأشعة فوق البنفسجية UV. تم حقن 50 مايكرولتر في الجهاز، ثم قورن وقت ظهور المركب Retention time مع وقت ظهور المركب القياسي وقدر التركيز (ميكروغرام/كغ) وفق المعادلة التالية (19):

$$Conc._{Unknown}=(Area_{unknown}/Area_{Known})* conc._{known}$$

جدول 1. المحاليل الكيميائية المستخدمة في تحليل الأفلاتوكسين
Table 1. The chemical solutions used in Afltoxin analysis

المادة material	طريقة التحضير Preparation method
الطور الحامل Eluent phase	Water/ Methanol/ Acetonitrile (60/30/15)
محلول الـ PBS (5X) PH 7.2	28mM - 50.14 g $Na_2HPO_4.12H2O$/ 700ml DI water 14mM – 9.66 g $NaH_2PO_4.2H_2O$/ 350 ml DI water 42.5 g NaCL – M=253.81
محلول اليود	0.3 غ من اليود/ 10 مل ميتانول / 1000 مل ماء مقطر

جدول 2. التراكيز المستخدمة في المحاليل القياسية لأنماط الأفلاتوكسينات B1، B2، G1، G2.
Table 2. Concentrations of standard solutions of aflatoxin types B1, B2, G1 and G2

المحلول القياسي Standard solution	G2	G1	B2	B1	Stock stand (µ L)
AS-4	0.470	1.402	0.477	1.587	400
AS-5	0.588	1.752	0.596	1.984	500
AS-6	2.940	8.760	2.980	9.920	2500
AS-7	5.880	17.520	5.960	19.840	5000

التحليل الإحصائي

أجري تحليل التباين باستخدام تحليل ANOVA واحد باتجاه واستخدم برنامج GenStat لتحديد الفروقات المعنوية على مستوى ثقة 99%.

النتائج والمناقشة

تباينت الطرز المدروسة من حيث محتواها من الأفلاتوكسينات كما هو مبين في جدول 3، إذ وصلت النسبة المئوية للعينات المصابة إلى 30.77% وذلك بعد حفظ الثمار لمدة ثلاثة أشهر دون تعقيم ضمن مجال تراوح بين 0–9.06 مايكروغرام/كغ بالإضافة إلى تلوث العينة التجارية المدروسة، إذ أن الإصابة الفطرية للمحاصيل الزراعية قبل وبعد الحصاد تبقى المشكلة الأساسية لسلامة الغذاء في أنحاء العالم (2)، كما أن المحتوى من الأفلاتوكسينات يجب أن يكون معادلاً للصفر في الأغذية والحبوب المعدة للاستهلاك البشري والحيواني (1). وتركز المحتوى الرئيس من الأفلاتوكسينات في الفستق المبشور التجاري وفي الطراز Ash.5 حيث كان 24.25 و 10.694 مايكروغرام/كغ، على التوالي (شكل 1). وكانت نتائج هذه الدراسة أعلى مقارنة مع نتائج دراسات سابقة حيث بلغت كمية الأفلاتوكسينات الإجمالية في عينات الفستق الحلبي 28.3% (7)، بينما تراوح متوسط المحتوى من الأفلاتوكسينات في 43 عينة من الفستق الحلبي 3.1±0.48 ضمن تركيز 0–2.08 بنسبة مئوية 2.3% للثمار الملوثة من مجمل العينات المدروسة في ثمار الفستق الطازجة وارتفعت النسبة إلى 55.17% في الثمار المملحة والمحمصة (22). وكانت نسبة الأفلاتوكسينات منخفضة جداً في الطرز Ash.6، Ajami.1 و Bat.2 حيث بلغ مقدارها 0.037، 0.146، و0.187 مايكروغرام/كغ، على التوالي، بفروقات غير معنوية فيما بينها، وتقاربت بذلك مع بعض نتائج الدراسات السابقة حيث كان محتوى الفستق من الأفلاتوكسينات في حدود 0.4–0.7 مايكروغرام/كغ في الجزائر (14). يتميز الطراز Ash.5 بصفة عامة بحساسية عالية للإصابة بالحشرات والأعفان الفطرية مثل: *Monilia pistaceae zaprom*، *Botryosphaeria* sp.، *Eurytoma plotnikoru* وغيرها، وهذا ما يفسر ارتفاع محتوى الأفلاتوكسينات فيه إذ أن الضرر الذي تسببه الحشرات والكائنات الحية الدقيقة الأخرى يمكن أن يشكل بؤرة للمستعمرات الفطرية في الأنسجة الحساسة للإصابة مسببة تشكل المواد السامة لاحقاً، كما يتميز الطراز Ajami.1 بحساسيته إزاء الآفات الحشرية والمرضية ولكن بدرجة أقل من الطراز Ash.5. تميز الطرازان Ash.6 وBat.2 بتشقق القشرة الخارجية قبل النضج بفترة 3–4 أسابيع، فالعديد من أصناف الفستق الحلبي يتشقق غلافها الخشبي قبل الحصاد، إلا أن الثمرة تبقى مغلفة بالقشرة الخارجية مبقية على النواة سليمة من التلوث بالفطور والإصابات الحشرية المختلفة، وفي بعض الحالات تكون القشرة الخارجية ملتصقة بالغلاف الخشبي مما يؤدي إلى تشققها مع تشقق الغلاف الخشبي معرضة النواة لإمكانية الإصابة وهذا ما يسمى بالطرز مبكرة التشقق. كما يحدث في بعض الحالات تحلل لأنسجة القشرة (كما هو الحال في الطراز Ash.6) مسببة وسطاً أنزيمياً قد يكون له دور مهم في نمو الفطور وبالتالي تشكل الأفلاتوكسينات لاحقاً، إذ أن الثمار التي لا تغلف بشكل كامل بالقشرة الخارجية تكون أكثر عرضة للتلوث في الحقل، فالإصابة بـــآفة دودة سرة البرتقال

navel orange worm التي تصيب الثمار ذات القشرة المتحلله ترتبط بشكل وثيق بارتفاع محتوى الثمار من الأفلاتوكسينات (5). ولم تسجل الطرز الأخرى (Ash.1، Ash.2، Ash.3، Ash.4، Bat.1، Ajami.2، Beadi.1، Turki.1، Turki.2) تلوثاً بالأفلاتوكسينات، إذ أن هذه الطرز تمتاز بعدم تشقق القشرة الخارجية للثمرة وبقائها مغلفة لكامل الثمرة إضافة إلى قلة حساسيتها للإصابة بالآفات المختلفة. وهذا ما أشارت إليه بعض الدراسات (11، 25) إذ أن نسبة الأفلاتوكسينات في الثمار مبكرة التشقق تكون أعلى بحوالي 20%، في حين أن الثمار التي يبقى فيها الغلاف الخارجي مغلفاً للثمرة تكون خالية من الأفلاتوكسينات. وبالرغم من أهمية التشقق المبكر للتلوث بالفطور المنتجة للأفلاتوكسينات وكذلك العرضة للإصابات الحشرية إلا أنه لا تتوافر معلومات كافية حول وقت حدوث التشقق المبكر والوقت الذي يصبح فيه قابلاً للتلوث.

بلغت أعلى نسبة من الأفلاتوكسين B1 في العينة التجارية (19.48 مايكروغرام/كغ) الذي تفوق معنوياً على كافة الطرز المدروسة عند مستوى ثقة 99%، تلاه الطراز Ash.5 (9.06 مايكروغرام/كغ) بفروق معنوية مع بقية الطرز الملوثة. كذلك بينت النتائج وجود النمط B2 في العينة التجارية وفي الطراز Ash.5 بتركيز 3.92 مايكروغرام/كغ و 1.634 مايكروغرام/كغ، على التوالي، وبفروقات معنوية فيما بينهما عند مستوى ثقة 99%، وقد تجاوزت كمية الأفلاتوكسين في العينة التجارية من الفستق المبشور الحد المسموح به (2 مايكروغرام/كغ) والمحدد من قبل منظمة الأغذية والزراعة الدولية (الفاو) وفقاً لـــ Chiona وآخرون (8). ولم يلاحظ وجود تلوث بأنواع الأفلاتوكسين G1 أو G2 في كافة طرز النوع *P. vera* المدروسة باستثناء العينة التجارية من الفستق المبشور التي احتوت على النمط G1 بنسبة 0.85 مايكروغرام/كغ . تم خلال هذه الدراسة جمع الثمار من حقول مختلفة، وهي تحوي (في معظم الأحيان) ثماراً قديمة من محصول العام السابق مصابة بمختلف الفطور والتي يمكن أن تكون مصدراً للعدوى وتؤدي إلى تلوث الثمار السليمة لمحصول العام الحالي، كما أن قلة أو انعدام الخدمات الزراعية والمكافحة الكيميائية يساعد في حدوث التلوث بالفطور المنتجة للسموم قبل القطاف، حيث أشارت نتائج الدراسات السابقة إلى أن العديد من أنواع الفطر *Aspergillus* تصيب ثمار الفستق الحلبي وتؤدي إلى تحلل النواة قبل الحصاد، فقد تم عزل 13 نوعاً من الفطر من بساتين الفستق في إيران و14 نوعاً من بساتين الفستق الحلبي في ولاية كاليفورنيا في أمريكا (10). بينت نتائج الدراسة أن مدى تلوث ثمار الفستق بالأفلاتوكسينات يعتمد بدرجة كبيرة على اختلاف الطرز النباتية وحساسيتها للإصابة بالآفات الحشرية والمرضية المتباينة من جهة، وقابليتها للتشقق المبكر وتحلل القشرة الخارجية قبل الحصاد من جهة أخرى، إضافة إلى سوء تطبيق العمليات الزراعية في الحقول. كما أن هناك اختلافاً في نوعية المحصول ومحتواه من السموم بين الدول حيث تراوح متوسط محتوى ثمار الفستق الحلبي من الأفلاتوكسينات في إيران 54 نانوغرام/غرام، بينما بلغ محتواها 10 نانوغرام/غرام في أمريكا (17). وتأتي خطورة الأفلاتوكسينات في العينات المعدة للاستهلاك المباشر من خلال عدم تفككها بدرجات الحرارة المرتفعة وانتقالها عبر السلاسل الغذائية، إذ أن الفطور المنتجة للأفلاتوكسينات تموت عند درجات الحرارة العالية إلا أن المواد السامة الناتجة عنها (الأفلاتوكسينات) لاتتفكك في درجات الحرارة العالية والتي قد تصل في بعض الأحيان إلى 250 °س (22).

جدول 3. محتوى الأفلاتوكسينات (B1، B2، G1 و G2) في الأنماط المدروسة من الفستق الحلبي.

Table 3. Aflatoxins (B1, B2, G1 and G2) content in studied pistachio genotypes

محتوى الأفلاتوكسين مايكروغرام/كغ Aflatoxin content (µg/kg)					الطراز الوراثي
الإجمالي Total	G2	G1	B2	B1	Genotype
0.187	0	0	0	0.187	Bat.2
0.146	0	0	0	0.146	Ajami.1
0.037	0	0	0	0.037	Ash.6
10.694	0	0	1.634	*9.06	Ash.5
0	0	0	0	0	Ash.4
0	0	0	0	0	Ash.1
0	0	0	0	0	Bat.1
0	0	0	0	0	Beadi.1
0	0	0	0	0	Ash.3
0	0	0	0	0	Ash.2 مخملي
0	0	0	0	0	Turki.1
0	0	0	0	0	Ajami.2
0	0	0	0	0	Turki.2
24.25	0	0.85	3.92*	19.48*	commercial
35.314	0	0	5.554	28.91	الإجمالي Total
			1.18	2.13	LSD at 1%

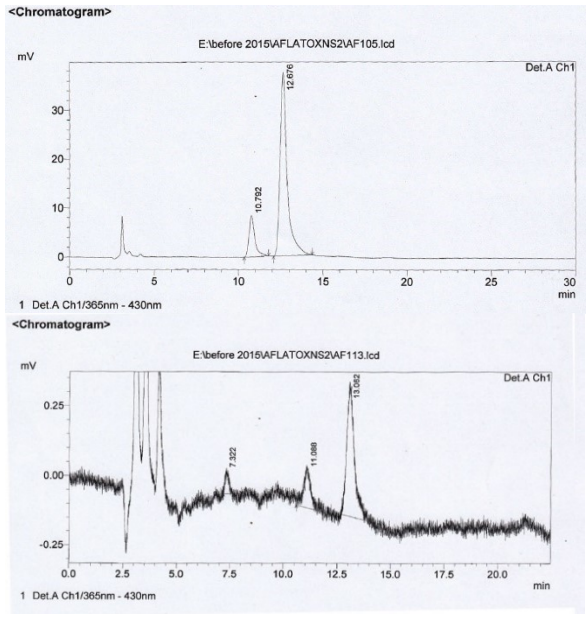
تشير * إلى التفوق المعنوي بين الطرز المدروسة حيث حسبت الفروق المعنوية بعد تحويل قيم الصفر بطريقة الجذر التربيعي وفقاً لـ $Pi=\sqrt{-(Pi+0.5)}$

* Refers to the significant differences among studied genotypes after transforming 0 values using the square root formula $Pi=\sqrt{(Pi+0.5)}$

وبالنتيجة فقد أثبتت طريقة تقدير الأفلاتوكسينات باستخدام جهاز الـــ HPLC فعالية ودقة عالية في تقدير محتواها في الطرز المختلفة التابعة للنوع *P. vera*. ونظراً للخطورة العالية للأفلاتوكسينات وتأثيرها المباشر في الصحة البشرية لابد من توسيع الدراسات المستقبلية في هذا الإطار ودراسة كافة الآفات التي تصيب ثمار الفستق الحلبي في كافة مناطق التوسع، ووضع برامج مكافحة لها وفق أسس علمية دقيقة، وضرورة الاهتمام بكافة العمليات الزراعية قبل وبعد القطاف بما يتوافق مع بيولوجيا وخصائص المحصول. ولابد كذلك من وجود رقابة على كافة العينات التجارية سواء المعدة للاستهلاك الطازج أوالتي تدخل في الصناعات الغذائية.

شكر وتقدير

نتوجه بالشكر إلى مخبر التموين التابع لمديرية التجارة الداخلية وحماية المستهلك في محافظة السويداء على تقديم التسهيلات والمساعدات المطلوبة لإنجاز العمل.



Ash.5 genotype Commercial sample

شكل 1 . كروماتوجرام يوضح محتوى الفستق الحلبي الطراز Ash.5 والعينة التجارية من الأفلاتوكسينات اعتماداً على وقت ظهور التلوث باستخدام جهاز الـ HPLC

Figure 1. Chromatogram showing aflatoxins content in Ash.5 pistachio genotype and the commercial pistachio sample using HPLC based on retention time.

Abstract

Al-Hajjar, N.M. and B.M. Muzher. 2016. Detection of aflatoxin contamination in different Aleppo pistachio genotypes using methanol-water method HPLC. Arab Journal of Plant Protection, 34(2): 142-147.

The study was conducted in the General Commission for Scientific Agricultural Research at Sweida Research Center, to evaluate the possibility of pistachio contamination with aflatoxins. Thirteen *P. vera* genotypes (Ash.1, Ash.2, Ash.3, Ash.4, Ash.5, Ash.6, Bat.1, Bat.2, Ajami.1, Ajami.2, Beadi.1, Turki.1, and Turki.2) in comparison with a commercial sample of grated *P. vera* nuts were evaluated using the methanol-water method HPLC. Results showed that 4 of 13 *P. vera* genotypes were contaminated with aflatoxins, particularly the type B1 in the range of 0.0-9.06 µg/kg. The main concentration was detected in Ash.5 genotype, in addition to the B2 type (1.634 µg/kg). The contamination was related to the high sensitivity of some *P. vera* genotypes to different insects and diseases, early splitting of nuts in some genotypes, in addition to the poor agricultural practices in the field. Three types of aflatoxins were found in the commercial sample of grated nuts; B1, B2 and G1 at 9.48, 3.92 and 0.85 µg/kg, respectively, which were significantly different from all other genotypes at 99% confidence level. Contamination level reached 30.77% after storage for three months when the nuts of the different genotypes were not surface sterilized, in addition to the contamination of the commercial sample. The results endorsed the high efficiency of HPLC system in detecting aflatoxins contamination in pistachio nuts.

Keywords: Aflatoxin, *Pistacia vera*, early splitting, HPLC, Syria.

Corresponding author: Najwa Motaeb Alhajjar, General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria, email: najwa81hj@yahoo.com

المراجع

1. **ميخائيل، سمير**. 1993. أمراض البذور. كلية الزراعة، جامعة الاسكندرية، منشأة المعارف. مصر.
2. **هاشم، عبد الكريم جاسم، وصال هشام علي ومهدي ضمد القيسي**. 2008. التأثير التثبيطي للمستخلص الزيتي لنبات القرفة (*Cinnamomum zeylanicum*) في نمو وإنتاج الأفلاتوكسين B1 في الفطر *Aspergillus flavus*. المجلة العراقية للعلوم، 49: 74-85
3. **Bhat, R.V. and S. Vasanth**. 2003. Mycotoxin food safety risk in developing countries In: Food safety in food security and food trade. International Food

References

Policy Research Institute; Focus 10, vision 2020, Brief 3.

4. **Bruhn, C.H., L.J. Harris, M. Giovanni and D. Metz**. 2010. Nuts: Safe methods for consumers to handle, store, and Enjoy; Almonds, Chestnuts, Pecans, Pistachios, and walnuts. University of California, Agriculture and Natural resources: 1-11
5. **Boutrif, E.** 1998. Prevention of aflatoxin in pistachio. In: Editorial, FNA/ANA 21: 32-37
6. **Bui-Klimke, T.R., H. Guclu, T.W. Kensler, J.M. Yuan and F. Wu.** 2014. Aflatoxin regulations and

18. **Khosravi, A.R., H. Shokri and T. Ziglari.** 2007. Evaluation of Fungal Flora in Some Important Nut Products (Pistachio, Peanut, Hazelnut and Almond) in Tehran, Iran. Pakistan Journal of Nutrition, 6: 460–462.
19. **Kupiec, T.** 2004. Quality-control analytical methods: High performance liquid chromatography. International Journal of Pharmaceutical Compounding, 8: 223-227
20. **LCTech GmbH, Dorfen**. 2010. AflaCLEAN™ Immunoaffinity Columns for aflatoxin B/G analysis (Deutschland).
21. **Mahoney, N.E. and S. B. Rodriguez.** 1996. Aflatoxin variability in pistachios. Applied and Environmental Microbiology, 62: 1197-1202
22. **Ostadrahimi, A., F. Ashrafnejad, A. Kazemi, N. Sargheini, R. Mahdavi, M. Farshchian and S. Mahluji.** 2014. Aflatoxin in Raw and Salt-Roasted Nuts (Pistachios, Peanuts and Walnuts) Sold in Markets of Tabriz, Iran. Jundishapur Journal of Microbiol, 7: e8674
23. **Reza, S.S.M., M. Ansarin, A. Tahavori, F. Ghaderi and M. Nemati.** 2012. Determination of aflatoxins in nuts of Tabriz confectionaries by ELISA and HPLC methods. Advanced Pharmaceutical Bulletin, 2: 123-126
24. **Seitz, L.M. and H.E. Mohr.** 1977. A new method for quantitation of aflatoxin in Corn. Cereal Chemistry, 54: 179-182.
25. **Sommer, N.F., J.R. Buchanan and R.J. Fortlage.** 1986. Relation of early splitting and tattering of pistachio nuts to aflatoxin in the orchard. Phytopathology, 76: 692-694.
26. **Veršilovskis, A. and V. Miķelsone.** 2006. Reduction of Aflatoxin B_1 and B_2 in pistachio nuts by extraction with ethanol and ethanol-water solutions. Maisto Chemijar IR Technologija, 40: 64-68
27. **Yazdanpanah, H. and M.M. Pharm**. 2001. Natural occurrence of mycotoxins in cereals from Mazandaran and Golestan provinces. Archives of Iranian medicine, 4: 107-114.
28. **Yuan, L. and H. Naoki.** 2004. Analysis of Aflatoxins by High Performance Liquid Chromatography with Post-column Bromination. Shimadzu (Asia Pacific) Pte. Ltd. AD0012LC: 1-4.

global pistachio trade: Insights from social network analysis. PLoS One, 9(3): [e92149]. doi:10.1371/journal.pone.0092149
7. **Cheraghali, A.M., H. Yazdanpanah, N. Doraki, G. Abouhossain, M. Hassibi, S. Ali-abadi, M. Aliakbarpoor, M. Amirahmadi, A. Askarian, N. Fallah, T. Hashemi, M. Jalali, N. Kalantari, E. Khodadadi, B. Maddah, R. Mohit, M. Mohseny, Z. Phaghihy, A. Rahmani, L. Setoodeh, E. Soleimany and F. Zamanian.** 2007. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. Food and Chemical Toxicology, 45: 812–816.
8. **Chiona, M., P. Ntawuruhunga, I.R.M. Benesi, L. Matumba and C.C. Moyo.** 2014. Aflatoxin contamination in Processed Cassava in Malawi and Zambia. African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development, 14: 8809-8820
9. **Cole, R.J. and R.H. Cox.** 1981. Handbook of toxic fungal metabolites. New York, Academic Press. 937 pp.
10. **Doster, M.A. and T.J. Michailides.** 1994. Aspergillus moulds and aflatoxins in pistachio nuts in California. Phytopathology, 84: 583-590.
11. **Doster, M.A. and T.J. Michailides.** 1995. The relationship between date of hull splitting and decay of pistachio nuts by *Aspergillus* species. Plant Disease, 79: 766-769
12. **FAO.** 1979. Prevention of mycotoxins. FAO Food and Nutrition Paper No.10. Rome.
13. **FAO.** 1982. Mycotoxin surveillance. FAO Food and Nutrition Paper No. 21. Rome.
14. **Fernane, F., V. Sanchis, S. Marin and A.J. Ramos.** 2010. First report on mould and mycotoxin contamination of pistachios sampled in Algeria. Mycopathologia, 170: 423–9.
15. **Hajdu, S., A. Obradovic, E. Presterl and V. Vecsei.** 2009. Invasive mycoses following trauma. Injury, 40: 548-554.
16. **International Agency for Research on Cancer**. 1993. Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: IARC, 56: 359-62.
17. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).** 2007. Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series 947

Received: February 10, 2015; Accepted: February 18, 2016

تاريخ الاستلام: 2015/2/10؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2016/2/18