# ارزیابی میزان اکراتوکسین A و آفلاتوکسین‌های (B1, B2, G1, G2) غلات عرضه شده در فروشگاه‌های شهر تهران به روش کروماتوگرافی با کارایی بالا در سال ۱۳۸۹

**آیدین ماه‌تابانی[۱]، منصور بیات[۲*]، سید ابراهیم حسینی[۱]، مهدی امین‌افشار[۳]، حمیدرضا توکلی[۴]**

۱- گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ۲- گروه قارچ‌شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات ۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات ۴- گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا... (عج)

* نویسنده مسؤول: تهران، گروه قارچ‌شناسی پزشکی و دامپزشکی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات. کدپستی: ۱۹۸۱۹، تلفن: ۰۹۱۲۵۸۷۴۷۳۸ فکس: ۰۲۱-۲۲۱۱۰۱۹۳

پست الکترونیک: dr_mansour_bayat@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۳/۲۵ پذیرش: ۹۰/۱/۲۱

## چکیده

**مقدمه:** *قارچ‌ها قادر به ایجاد آلودگی در اندام‌های زنده و مرده گیاهان و جانوران می‌باشند. به همین علت امکان آلوده شدن محصولات کشاورزی در مزرعه وجود دارد. آفلاتوکسین‌ها، مایکوتوکسین‌هایی هستند که عمدتاً به وسیله چندین گونه از قارچ‌های آسپرژیلوس شامل فلاووس، پارازیتیکوس، نومیوس، اریزئوس، اریزهآ و پنی‌سیلیوم پابرکولوم و اکراتوکسین توسط آسپرژیلوس اکراسئوس تولید می‌شوند. در تحقیق حاضر میزان نفوذ سموم آفلاتوکسین و اکراتوکسین به غلات صبحانه موجود در فروشگاه‌های شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت.*

**روش کار:** *تعداد ۱۸ نمونه به طور تصادفی انتخاب شدند و پس از یکنواخت کردن، در ۳ مرحله استخراج، تخلیص و تعیین مقدار سموم مورد بررسی قرار گرفتند. سپس تشخیص با دتکتور فلورسانس ۳۳۳= λme و ٤٦٠=λxe و ۱۰۰۰=Gain و ١٦=Attn و تعیین مقدار از طریق مقایسه سطح زیر منحنی تک تک نمونه‌ها و استانداردها با احتساب ضریب رقت انجام شد.*

**یافته‌ها:** *این مطالعه نشان داد که در هیچ یک از نمونه‌های مورد آزمایش اکراتوکسین A یافت نشد و مقدار آن در همه نمونه‌ها ۰/۰ بود. آفلاتوکسین B1 و B2 در برخی از نمونه‌ها یافت شد. اما در همه آنها زیر حد استاندارد ایران، اروپا و امریکا بود. مقدار آفلاتوکسین‌های G1 و G2 در کلیه نمونه‌ها ۰/۰ بود.*

**نتیجه‌گیری:** *با توجه به حضور قارچ‌های مولد آفلاتوکسین و عوامل کنترل‌کننده این قارچ‌ها در محل تولید، همبستگی مثبتی بین کاهش جمعیت قارچ‌های مولد آفلاتوکسین و عوامل کنترل کننده با کاهش میزان آفلاتوکسین دیده شد. از پتانسیل عوامل کنترل کننده می‌توان برای جلوگیری از آلودگی غلات به آفلاتوکسین به خوبی استفاده نمود.*

**گل‌واژگان:** *اکراتوکسین، آفلاتوکسین، HPLC، غلات صبحانه، شهر تهران*

## مقدمه

در حال حاضر به خوبی ثابت شده است که متابولیت‌های سمی قارچ‌ها یا مایکوتوکسین‌ها[۱] مسؤول بسیاری از اپیدمی‌ها در جوامع انسانی و دامی به ویژه در دوران اخیر بوده‌اند (۱). مهم‌ترین شیوع بیماری مربوط به ارگوتیسم بود که موجب مرگ صدها هزار نفر در اروپا طی هزاره گذشته میلادی گردید. مسمومیت غذایی آلئوکیا[۲] موجب مرگ حداقل ۱۰۰۰۰۰ نفر از مردم روسیه طی سال‌های ۱۹۴۸ -۱۹۴۲ گردید. استاکی بوتریوتوکسیکوز[۳] در دهه ۱۹۳۰ موجب مرگ ده‌ها هزار اسب در اتحاد جماهیر شوروی گردید و آفلاتوکسیکوز در سال ۱۹۶۰ موجب مرگ ۱۰۰۰۰۰ قطعه بوقلمون در انگلستان شد و از آن تاریخ به بعد موجب بیماری و تلفات فراوانی در سایر دام‌ها و انسان گردید. سموم تولید شده توسط قارچ‌ها به نام

[1] Mycotoxin
[2] Aleukia
[3] Stachybotricosis



[ Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-02-02 ]

مایکوتوکسین شناخته می‌شوند و بر اساس یک توافق عمومی این نام معمولاً محدود به قارچ‌های موجود در مواد غذایی و خوراک حیوانات می‌شود (به استثناء سمومی که توسط بازیدیومیست‌ها[4] از قبیل قارچ‌های گوشتی تولید می‌شوند) (۲). این مواد معمولاً دارای مولکول‌های متفاوتی از ساختمان‌های شامل یک حلقه هتروسیکلیک با وزن مولکولی کمتر از ۵۰ دالتون تا گروه‌هایی از حلقه‌های نامتجانس با وزن مولکولی بیش از ۵۰۰ دالتون هستند. مایکوتوکسین‌ها ۴ نوع اصلی از مسمومیت را موجب می‌شوند که عبارتند از: مسمومیت حاد، مسمومیت مزمن، خاصیت جهش‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی (۴ و ۳). اصلی‌ترین اثر شرح داده شده برای مایکوتوکسیکوز حاد، بر جای گذاشتن آثار سوء بر کبد و کلیه می‌باشد که موجب مرگ می‌شود. برخی از مایکوتوکسین‌ها به طور اولیه در امر سنتز پروتئین دخالت می‌نمایند و به این ترتیب موجب حساسیت پوستی، نکروز و یا تضعیف سیستم ایمنی می‌شوند (۵). گروهی دیگر از مایکوتوکسین‌ها به عنوان نوروتوکسین عمل می‌نمایند و حتی در مقادیر کم موجب لرزش‌های مداوم در حیوانات شده، اما فقط در مقادیر زیاد موجب آسیب مغزی دایم و حتی مرگ می‌شوند (۶). برخی از سموم، همانندسازی DNA را تحت تأثیر قرار می‌دهند و آثار موتاژنیک و یا تراتوژنیک باقی می‌گذارند (۷). علایم مایکوتوکسیکوز حاد معمولاً با مسمومیت توکسین‌های باکتریایی متفاوت است و این علایم به دلیل اختلاف در ساختار شیمیایی آنها بسیار گوناگون می‌باشد (۸). مقادیر مورد نیاز برای ایجاد بیماری مزمن بسیار کمتر از مقادیر مورد نیاز برای تولید عوارض حاد می‌باشد (۹). در تحقیق حاضر میزان نفوذ سموم قارچی آفلاتوکسین و اکراتوکسین به غلات صبحانه موجود در فروشگاه‌های شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت.

## روش کار

مواد و وسایل مورد استفاده در طرح شامل: سم آفلاتوکسین (B1, B2, G1, G2) خالص، سم اکراتوکسین A خالص، محلول متانول MeOH، محلول اسید استیک، محلول PBS، محلول Tween20، محلول NaCl، حلال فاز متحرک MeCN: H2O: Acetic Acid (99:99:02)، H2O-HPLC، کاغذ صافی معمولی و GFF، آب دیونیزه، دتکتور فلورسانس، دستگاه HPLC، بلندر، ستون Immuno affinity بود.

برای آماده‌سازی نمونه‌ها، تعداد ۱۸ نمونه از غلات صبحانه با پایه‌های غله‌ای متفاوت (گندم، ذرت، جو، چاودار و برنج) غیرشکلاتی در ۶ زیرگروه ۳ تایی (گروه‌های A تا C) از شرکت‌های تولیدکننده داخلی (مطابق جدول۱) یکنواخت و به طور مجزا بسته‌بندی شد.

**جدول ۱- مشخصات نمونه‌ها با نام تجاری و اجزای تشکیل‌دهنده نمونه‌ها**

| شرکت تولیدی | نام تجاری محصول | اجزای تشکیل‌دهنده محصول |
|---|---|---|
| شرکت ۱ | گروه A | بلغور ذرت، شکر، نمک، عصاره مالت، ویتامین‌های B1، B2، B6، B12، A، E، D |
| شرکت ۲ | گروه B | گندم، جو، ذرت، چاودار، سویا، چیپس خرما، عسل، فندق، بادام،کنجد، مالت، گلوکز، سیب خشک، دارچین، روغن گیاهی |
| شرکت ۳ | گروه C | گندم، شکر، گلوکز |

آزمایش در ۳ مرحله استخراج، تخلیص و تعیین مقدار سم انجام پذیرفت. در مرحله استخراج، ابتدا برای فعال‌کردن ستون‌ها، محلول PBS را از آنها عبور دادیم. هر نمونه را به خوبی مخلوط کرده و سپس ۱۰ گرم از هر نمونه را با احتساب ۰/۱ خطا توزین نمودیم. ۱۰ گرم نیز برای نمونه Spike با ۰/۱ خطا توزین نمودیم و ۵۰µl از اکراتوکسین A و آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1، G2 استاندارد با غلظت ۱۰۰۰ ppm را در جاهای مختلف نمونه اضافه کردیم. مراحل کار به ترتیب زیر بود: ابتدا ۱۰±۰/۱ گرم نمونه را توزین کردیم و سپس به آن یک گرم NaCL و ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال استخراج (MeOH: H2O= 80: 20) افزودیم و به مدت سه دقیقه با بلندر مخلوط و با کاغذ صافی معمولی فیلتر کردیم. سپس پنج میلی‌لیتر محلول فیلتر شده را به ۲۵ میلی‌لیتر محلول PBS افزودیم و به شدت تکان دادیم. مخلوط را از کاغذ صافی GFF عبور دادیم و در نهایت همه عصاره رقیق شده را ضمن رساندن دمای ستون به دمای آزمایشگاه برداشته و از ۲۰ میلی‌لیتر محلول PBS عبور دادیم (۹). در مرحله تلخیص، ۳۶ میلی‌لیتر عصاره رقیق شده را از ستون عبور دادیم و با ۱۰ میلی‌لیتر محلول PBS ستون را شستشو دادیم. سپس، ستون را با عبور فشار ملایم هوا به مدت ۱۵ -۱۰ ثانیه خشک کردیم و بعد از آن ۵۰۰ µl، MeOH: AOCH (98: 02) به ستون اضافه کرده و در ویال جمع‌آوری نمودیم. بعد از یک دقیقه توقف ۱۰۰۰ µl، MeOH: AOCH (98: 02) را به ستون افزوده و در ویال جمع‌آوری نمودیم. سپس به آن ۱۵۰۰ µl آب اضافه کردیم و پس از مخلوط‌سازی با ورتکس، ستون HPLC را با۲۰ میلی‌لیتر محلول PBS شستشو دادیم و به آن ۱۰۰µl در ستون HPLC تزریق نمودیم (۹). در مرحله تعیین مقدار، تشخیص با دتکتور فلورسانس λme=۳۳۳ و λxe=۴۶۰ و Gain=۱۰۰۰ و Attn=۱۶ و تعیین مقدار از طریق مقایسه سطح زیر منحنی تک تک نمونه‌ها و استانداردها با احتساب ضریب رقت انجام شد (۹).

[4] Basidiomycetes



[ Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-02-02 ]

## نتایج

در هیچ یک از نمونه‌ها اکراتوکسینA یافت نشد. آفلاتوکسین B1 و B2 در برخی از نمونه‌ها یافت شد؛ اما در همه آنها زیر حد استاندارد ایران، اروپا و امریکا بود (۱۰). مقدار آفلاتوکسین G1 و G2 در کلیه نمونه‌ها ۰/۰ بود. جزئیات نتایج در جدول ۲ آورده شده است.

**جدول ۲- غلظت مایکوتوکسین‌های ارزیابی شده در نمونه‌ها بر حسب ppb**

| نام نمونه | شماره نمونه | غلظت نهایی (ppb) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | OTA | AFTB1 | AFTB2 | AFTG1 | AFTG2 |
| نمونه‌های غیرشکلاتی شرکت ۱ (گروه A) | A1 | ۰/۰۰ | ۰/۳۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | A2 | ۰/۰۰ | ۰/۲۱ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | A3 | ۰/۰۰ | ۳/۷۲ | ۰/۲۷ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | A4 | ۰/۰۰ | ۱/۳۳ | ۰/۱۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | A5 | ۰/۰۰ | ۰/۲۹ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | A6 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| درصد به تفکیک سم | A | ۰ | ۹۴/۰۵ | ۵/۹۵ | ۰ | ۰ |
| نمونه‌های غیرشکلاتی شرکت ۲ (گروه B) | B1 | ۰/۰۰ | ۰/۴۳ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | B2 | ۰/۰۰ | ۰/۴۱ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | B3 | ۰/۰۰ | ۰/۳۹ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | B4 | ۰/۰۰ | ۲/۸۴ | ۰/۱۹ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | B5 | ۰/۰۰ | ۳/۷۹ | ۰/۲۶ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | B6 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| درصد به تفکیک سم | B | ۰ | ۹۴/۵۸ | ۵/۴۱ | ۰ | ۰ |
| نمونه‌های غیرشکلاتی شرکت ۳ (گروه C) | C1 | ۰/۰۰ | ۰/۲۹ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | C2 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | C3 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۴۳ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | C4 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | C5 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| | C6 | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| درصد به تفکیک سم | C | ۰ | ۴۰/۲۸ | ۵۹/۷۲ | ۰ | ۰ |
| نمونه Spike | Spike | ۵/۰۰ | ۵/۴۴ | ۱/۰۶ | ۵/۰۰ | ۱/۰۰ |
| نمونه Blank | Blank | ۰/۰۰ | ۰/۴۴ | ۰/۰۶ | ۰/۰۰ | ۰/۰۰ |
| درصد در کل نمونه‌ها | - | ۰ | ۹۱/۸ | ۸/۲ | ۰ | ۰ |

در جدول ۲ میزان نرمال برای AFTB1 تا ppb ۵ و برای کل AFTB1 و AFTB2 و AFTG1 و AFTG2 (AFT total) تا ppb ۱۵و میزان نرمال برای OTA تا ppb ۵ می‌باشد. با توجه به میزان نرمال اشاره شده هیچ کدام از نمونه‌های ارزیابی شده مقادیری بالاتر از حد نرمال نشان ندادند. چنانکه از داده‌های جدول معلوم است مقادیر ارزیابی شده برای آفلاتوکسین G شامل G1 و G2 و اکراتوکسین (OTA) در حد صفر بود و این سم‌ها در نمونه‌های آزمایش شده وجود نداشت. در مورد نمونه‌های حاوی آفلاتوکسین B (شامل B1 و B2) چون واحد همه غلظت‌ها یکسان (ppb) است، به راحتی می‌توان درصد B1 و B2 را محاسبه کرد. چنانکه ردیف درصد در کل نمونه‌ها نشان می‌دهد از بین سم آفلاتوکسین B جداسازی شده از کل نمونه‌ها مقدار ۸/۲٪ متعلق به نوع B2 و ۹۱/۸٪ متعلق به نوع B1 بوده است. ردیف‌های درصد به تفکیک سم، نسبت B1 به B2 را به صورت درصد برای نمونه‌های گروه A، B و C به صورت جداگانه نشان می‌دهد.

در جدول ۳ ردیف Norm C. مقادیری از سم‌های سه‌گانه را که در مرحله آماده‌سازی نمونه‌ها به نمونه‌های Spike اضافه شده است نشان می‌دهد (مرحله الف از روش کار) و ردیف Rec٪ میزان سم نهایی به دست آمده از مراحل تغلیظ و تخلیص و کروماتوگرافی را (به صورت درصد) در نمونه Spike نشان می‌دهد و نشان‌دهنده بازده بالای روش بکار برده شده می‌باشد. ردیف‌های R و R2 رگرسیون‌های مربوط به این فرایند را نشان می‌دهد؛ چنان‌که مشهود است همه آنها کاملاً به یک نزدیک شده‌اند و تأیید دیگری بر صحت و دقت روش بکار برده شده می‌باشد.

**جدول ۳- غلظت نهایی مایکوتوکسین‌های مورد آزمایش در نمونه‌های Spike**

| | OTA SPK | SPK AFTB1 | SPK AFTB2 | SPK AFTG1 | SPK AFTG2 |
|---|---|---|---|---|---|
| Prim C. | ۴/۸ | ۴/۳ | ۰/۹ | ۴/۲ | ۱/۰ |
| Final C. | ۴/۸ | ۳/۹ | ۰/۹ | ۴/۲ | ۱/۰ |
| Actual C. | ۴/۸ | ۳/۹ | ۰/۹ | ۴/۲ | ۱/۰ |
| Nom C. | ۵/۰ | ۵/۰ | ۱/۰ | ۵/۰ | ۱/۰ |
| % Rec. | ۹۵/۸ | ۷۸/۹ | ۸۶/۱ | ۸۴/۹ | ۹۶/۲ |
| R | ۰/۹۹۹۵۵ | ۰/۹۹۹۹ | ۰/۹۹۹۹ | ۰/۹۹۹۹ | ۰/۹۹۹۹ |
| R2 | ۰/۹۹۹۱ | ۰/۹۹۹۸ | ۰/۹۹۹۸ | ۰/۹۹۹۸ | ۰/۹۹۹۸ |

## بحث

آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین‌ها از متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که توسط گروهی ازقارچ‌ها به ویژه از جنس آسپرژیلوس ایجاد می‌گردند. مهم‌ترین قارچ‌های ایجادکننده آفلاتوکسین، آسپرژیلوس[5] (فلاووس[6]، پارازیتیکوس[7]، نومیوس[8]، اریزئوس[9]، اریزه[10]) و پنی‌سیلیوم پابرکولوم و قارچ اصلی ایجادکننده اکراتوکسین، آسپرژیلوس اکراسئوس[11] می‌باشد. این قارچ‌ها قادر به ایجاد آلودگی در اندام‌های زنده و مرده گیاهان و جانوران می‌باشند. به همین علت امکان آلوده شدن محصولات کشاورزی در مزرعه به این قارچ‌ها و سموم آنها وجود دارد. مطالعات نشان داده است که پس از برداشت محصول نیز بکارگیری روش‌های مناسب فرآوری و خشک کردن و نگهداری در انبار جهت کاهش آلودگی و جلوگیری از گسترش آن لازم است (۱۱ و ۱۲). بنا به گزارش تامسون و هنک[12] در سال ۲۰۰۰ تولید آفلاتوکسین در صورت وجود شرایط مناسب، بدون توجه به طول مدت ذخیره و شرایط آب و هوایی انجام می‌گیرد (۱۳). هنک و همکاران در سال ۲۰۰۱ با مطالعه بر روی ۱۴۲ نمونه دانه‌های گیاهی گزارش

[5] Aspergillus
[6] Flavus
[7] Parasiticus
[8] Nomius
[9] Orhizeus
[10] Orhizea
[11] Aspergillus Ochraceus
[12] Thompson & Henke



[ Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-02-02 ]

نمودند در صورت فراهم بودن شرایط مناسب، امکان رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین در تمام مراحل از عمل‌آوری تا ذخیره وجود دارد (۱۴). شرایط خوب بسته‌بندی در مورد غلات بسیار مهم است. زیرا عدم تهویه و وجود رطوبت و عدم فرآوری مطلوب می‌تواند از عللی باشد که غلات را به اقسام قارچ‌ها آلوده می‌نماید. موضوع دیگر نگهداری مواد به صورت خرد شده یا سالم است. زیرا آلودگی قارچی، ابتدا به صورت فراوان در دانه‌های شکسته یا آسیب‌دیده به وجود می‌آید. بنا به گزارش پی‌یر[13] در سال ۱۹۹۱ دانه‌های ذرت فاقد پوشش، فاقد سد طبیعی برای جلوگیری از آلودگی به آسپرژیلوس می‌باشند که تولید آفلاتوکسین را در این دانه‌ها تسهیل می‌کند (۱۵).

مقایسه آلودگی نمونه ها به قارچ آسپرژیلوس و سم آفلاتوکسین نشان می‌دهد که در برخی نمونه‌ها با وجود بالا بودن آلودگی قارچی میزان آفلاتوکسین پایین بوده است، ولی در برخی نمونه‌های دیگر با وجودی که میزان آلودگی قارچی به ظاهر زیاد نبوده، اما همان مقدار قارچ، تولید سم کرده است. نکته قابل ذکر این که هر یک از گونه‌های قارچ آسپرژیلوس در شرایط ویژه‌ای قادر به تولید سم می‌باشند. گاهی با وجود آلودگی قارچی بالا در یک نمونه، فرصت کافی و شرایط مناسب برای تولید توکسین ایجاد نمی‌گردد (۱۶). به عنوان مثال دمای مطلوب و زمان لازم برای تولید آفلاتوکسین توسط آسپرژیلوس فلاووس ۲۵°c در ۷ تا ۹ روز می‌باشد. در ۳۰°c، زمان لازم ۵ تا ۷ روز و در ۲۰°c، مدت لازم برای تولید سم به ۱۱ تا ۱۳ روز می‌رسد. علاوه بر درجه حرارت و زمان لازم، عوامل دیگری از قبیل ترکیبات مواد و فشار اسمزی، pH ماده غذایی و رطوبت قارچ اهمیت دارند. با توجه به شرایط ذکر شده می‌توان گفت نمونه‌هایی که به ظاهر دارای آلودگی قارچی کمتری نسبت به نمونه‌های دیگر بودند ولی میزان سم اندازه‌گیری شده در آنها بیشتر بوده، در شرایط مناسب تری از لحاظ تولید سم قرار داشتند. از طرفی ممکن است قارچ ها در صورت نامطلوب شدن شرایط از بین بروند، اما سم تولید شده توسط آنها همچنان باقی می‌ماند (۱۷).

ویلا و مرکاکی[14] به بررسی آفلاتوکسین B1 و اکراتوکسین A به روش HPLC در غلات صبحانه موجود در فروشگاه‌های شهر آتن پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در ۵۶/۳٪ از نمونه‌ها AFTB1 وجود داشت که در هفت نمونه میزان آن بیشتر از حد مجاز اروپا بود. همچنین در ۶۰٪ از نمونه‌ها نیز OTA مشاهده شد و ۱۹ نمونه نیز به هر دو مایکوتوکسین آلوده بودند (۱۸).

مولینی[15] به بررسی برخی از غلات صبحانه در فروشگاه‌های فرانسه از نظر اکراتوکسین A، سیترینین[16] و فومونیسین[17] B1 پرداختند و نتیجه آن‌که در ۶۰٪ از نمونه‌ها OTA یافت شد و ۲۰٪ آنها بالاتر از حد مجاز اروپا بود. ۲۰٪ از نمونه‌ها نیز حاوی سیترینین بودند و فومونیسین B1 نیز نه تنها در کورن فلیک، بلکه در فرآورده‌هایی که حاوی جو و برنج بودند نیز یافت شد. برخی از نمونه‌ها نیز حاوی هر سه نوع مایکوتوکسین بودند (۱۹). در تحقیق ما در کل غلات AFB1=۹۱/۸٪، OTA=۰٪ بود. قابل توجه است که در این تحقیق AFB2 نیز در رتبه دوم با میزان ۸/۲٪ بود که ویژگی این تحقیق می‌باشد؛ به عبارتی تنوع آفلاتوکسین در غلات صبحانه غیرشکلاتی ایران بیشتر از یونان می‌باشد. در این تحقیق با بررسی غلات صبحانه غیرشکلاتی سه شرکت ۱، ۲ و ۳ درصد حضور آفلاتوکسین B1 به ترتیب ۹۴/۰۵٪، ۹۴/۵۸٪، ۴۰/۲۸٪ و آفلاتوکسین B2 به ترتیب ۵/۹۵٪، ۵/۴۱٪، ۵۹/۷۲٪ می‌باشد. قابل توجه است که میزان AFB2 در شرکت ۳ از AFB1 کمتر بود، که شاید مربوط به شرایط ایجاد توکسین می‌باشد. در مطالعات انجام شده ثابت شده است که ۲۵٪ کل مواد غذایی سالیانه با سموم قارچی آلوده می‌شوند که باعث خسارات اقتصادی می‌گردد (۹). حد مجاز آلودگی به آفلاتوکسین B1 در جیره غذایی دام 5µg/kg و در غذای انسان 2µg/kg طبق استاندارد ایران است. حد مجاز مجموع آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی در آمریکا ۲۰ ppb و در اروپا ۴ ppb –۲ می‌باشد (۱۰). در حال حاضر در کشور ما حد استاندارد برای آفلاتوکسین توتال ۱۵ ppb و برای آفلاتوکسین B1، ۵ ppb می‌باشد و نیز حد مجاز اکراتوکسین A در غلات ۵ ppb و در کشمش ۱۰ ppb است (۲۰).

البرزی میزان آلودگی پنیر پاستوریزه UF و سنتی را به آفلاتوکسین M1 به روش ELISA در شیراز تعیین کرد و به این نتیجه رسید که بر خلاف این که ۳۰٪ از شیرهای پاستوریزه بالاتر از حد مجاز به آفلاتوکسین M1 آلوده بودند ولی هیچ یک از پنیرهای تولید شده از این شیر آلودگی بالاتر از حد مجاز به این سم را نداشتند (۲۱). البرزی و پورعباس همچنین به تخمین میزان آلودگی شیر پاستوریزه به آفلاتوکسین M1 در شیراز پرداختند و دریافتند با توجه به میزان بالای آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 در کشور ما، شیر و سایر محصولات لبنی باید جهت بررسی آلودگی به این توکسین به طور مداوم آزمایش شده و با توجه به این که منشاء آلودگی شیر به AFM1 مصرف

[13] Pier
[14] Villa and Markaki
[15] Molinie
[16] Citrinin
[17] Fumonisin



[ Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-02-02 ]

غذای آلوده به AFB1 توسط دام می‌باشد، ضروریست که غذای دام‌ها تا حد امکان دور از آلودگی قارچی نگه داشته شود (۲۲). خشکناب به بررسی آلودگی قارچی ضایعات نان ماشینی در کرمانشاه پرداخت و دریافت که بیشترین ضایعات از نظر گونه‌های قارچی بیشتر به آسپرژیلوس (فلاووس و فومیگاتوس[18]) و جنس کلادوسپوریوم[19] آلوده بودند (به علت مصرف گسترده نان در تغذیه دام‌ها احتمال آلودگی فرآورده‌های دامی به مایکوتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین وجود دارد) (۲۳). حسن‌زاده خیاط به بررسی میزان آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه مشهد با دو روش HPLC و TLC پرداخت و به این نتیجه رسید که برخی از نمونه‌های جمع‌آوری شده دارای آفلاتوکسین M1 بودند (۲۴).

## نتیجه‌گیری

از مقایسه نتایج این بررسی و مطالعات انجام شده در سایر کشورها می‌توان نتیجه گرفت که در اقلام عمده مواد غذایی آلودگی بالقوه به قارچ و سم ناشی از آن وجود دارد و می‌بایست در هنگام برداشت کلیه اقلام تشکیل دهنده خوراک انسان، استانداردهای جهانی اعمال گردد تا زمان مصرف شرایط مناسبی برای حمل و نگهداری آنها ایجاد شود. نکته قابل توجه دیگر اینکه هر چه زمان برداشت محصول در نقطه پایانی خط تولید یا در زمان تهیه خوراک تا زمان مصرف کمتر باشد، احتمال آلودگی کمتر است.

[18] Aspergillus flavus and Fumigatus
[19] Cladosporium

## References


1- Cheng CT, Perak M. Mass Poisoning Tale of the 9 Emperor Gods and Rat Tail Noodles, Am J Forensic Med Pathol 1992; 3: 13-26.
2- Pitt JI, Hocking AD. Aspergillus and its Teleomorph. In: Pitt JI, Hocking AD, eds. Fungi and Food Spoilage. Williams and Wilkins Publishing; 1985: 295-309.
3- Markarananda K, Pengpan U, Siriskaulthong M, et al. Monitoring of Aflatoxin Exposure by Biomarkers. Toxical Science Journal 1998; 23:15-25.
4- Mortazavi A, Tabatabai F. Fungal toxin. Ferdowsi University of Mashhad; 1997: pp. 80-96.
5- Williams JH, Phillips T, Jolly P, et al. Human Aflatoxicosis in Developing Countries: A Review of Toxicology, Exposure, Potential Health Consequences and Interventions. American Journal of Clinical Nutrition 2004; 80:1106-1122.
6- Sylla A, Diallo M, Kastegnano J, et al. Interaction Between Hepatitis B Virus Infection and Exposure to Aflatoxin in the Development of Hepatocellular Carcinoma: A Molecular Epidemological Approach. Mutant Research 1999; 428: 187-196.
7- Allameh Abdolamir M, Razaghi M. Maykotoksiyn Game. Imam Hossein University Press; 2001: 48-53&63-67.
8- Klich M, Pitt JI. Differentiation of Aspergillus Flavus from A.Parasiticus and other Closely Related Species. Trans. Br. Mycol. Sco 1988; 91:99-108.
9- Turner WN, Subrahmanyam SS, Piletsky A. Analytical Methods for Determination of Mycotoxins: A Review. Analytica Chimica Acta 2009; 632:168-180.
10- Castells M, Marin S, Sanchis V, et al. Distribution of Fumonisins and Aflatoxins in Corn Fractions During Industrial Cornflake Processing. International Journal of Food Microbiology 2008; 123:81-87.
11- Rustom YS. Aflatoxin in Food and Feed. Occurrence, Legislation and inactivation by physical methods. Food chemistry 1996; 59: 57-67.
12- Samarajeewa U, Sen AC, Cohen MD, et al. Detoxification of Aflatoxins in Feeds and Foods by physical and chemical. Methods. Journal of food protection 1990; 53: 489-501.
13- Thompson C, Henke SE. Effect of climate and type of storage container on aflatoxin production and its associated risk to wildlife species. Journal of Wildlife Diseases 2000; 36: 172-179.
14- Henke SE, Gollardo VC, Martinez B, et al. Survey of aflatoxin concentration in wild bird seed purchased. Journal of Wildlife Diseases 2001; 37 (4): 831-835.
15- Pier AC. Major biological consequences of aflatoxicosis in animal production. Journal of Animal Science 1992; 70: 3964-3967.
16- Gold blat LA. Food science and technology (Aflatoxin), Academic Press, INC.LTD; 1969: 68-96.
17- Lindenfelzer LA. Food additives and contaminants. Inc Company; 1970: 167- 176.
18- Villa P. Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Breakfast Cereals from Athens Market: Occurrence and Risk Assessment. Food Control 2009; 20: 455-461.
19- Molinie A, Faucet V, Castegnaro M, et al. Analysis of Some Breakfast Cereals on the French Market for Their Contents of Ochratoxin A, Citrinin and Fumonisin B1: Development of A Method for Simultaneous Extraction of Ochratoxin A and Citrinin. Food Chemistry 2005; 92: 391-400.
20- Miyahy A. Isolated Aspergillus and aflatoxin determination in fish meal, corn, soybean Vknjalh. Journal of nectar Chamran University 2007; 17: 95-105.
21- Alborzi S. To determine contamination of pasteurized cheese UF Vsnty Aflatoxin M1 to the city of Shiraz. Journal of Tropical and Infectious Diseases 2004; 27: 28-31.
22- Alborzi S, Purabas B. Estimating the amount of aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz. Journal of Tropical and Infectious Diseases 2007; 26: 44-47.
23- Pastar Khoshknab E. Study of fungal contamination of bread waste collected in the city of Kermanshah. Journal of Scientific Research and Improvement 2000; 2: 14-18.
24- Hassanzadeh Khayyat M. Evaluation of aflatoxin M1 in pasteurized milk of Mashhad. Journal of Basic Medical Sciences 1999; 1: 24-29.




[ Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-02-02 ]

# Assessment of Ochratoxin A and Aflatoxin B1, B2, G1, G2 Rates in Breakfast Grains of Supermarkets in Tehran Using HPLC Method in 2010

Mahtabani A[1] (MSc.), Bayat M[2*] (PhD), Hosseini SE[1] (PhD), Aminafshar M[3] (PhD), Tavakoli H[4] (PhD)

[1]*Department of Food and Science Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resource, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[2]*Department of Medical and Veterinary Mycology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[3]*Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resource, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*

[4]*Department of Food Hygiene, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

**Received: 15 Jun 2010, Accepted: 10 Apr 2011**

## Abstract

**Introduction:** Fungi have ability to attack and contaminate plants and animals' dead or alive organs; therefore, possibility of contamination of agricultural products is high. Alfatoxins and Ochratoxins are mostly produced by Aspergillus species such as A.flavus, A.parasiticus, A.nomius, A.orhizeus, A.orhizea, A.ochraceus and penicillium puberculum. In this study, we aimed to assess the rate of fungal Aflatoxins and Ochratoxin in breakfast grains presented in supermarkets in Tehran.

**Methods:** Eighteen samples were randomly selected. The samples were grinded and separately packed. Then, they were assessed during three stages of extraction, purification, and determination. The diagnosis was done using fluorescence detector: λme: 333, λxe: 460 and grain: 1000, Attn: 16. The rate was determined comparing the under curve level of each sample and the standards.

**Results:** No Ochratoxin was found in the samples (rate= 0.0). Aflatoxin B1, B2 were found in some samples; however, the rates were below the standards of Iran (5 ppb), Europe (2- 4 ppb) and the US. (2ppb). The Aflatoxin G1 and G2 rates were 0.0 in our samples.

**Conclusion:** There was positive correlation between reduced amount of fungi generating Aflatoxin and controlling factors with reduced Aflatoxin rates. The control factors can be used to prevent grain contamination to Aflatoxin.

**Key words:** Ochratoxin, Aflatoxin, HPLC, Breakfast grains, Tehran

**Please cite this article as follows:**

Mahtabani A, Bayat M, Hosseini SE, Aminafshar M, Tavakoli H. Assessment of Ochratoxin A and Aflatoxin B1, B2, G1, G2 Rates in Breakfast Grains of Supermarkets in Tehran Using HPLC Method in 2010. Hakim Research Journal 2011; 14(1): 10- 15.

[*]Corresponding Author: Department of Medical and Veterinary Mycology, Faculty of Veterinary Specialized Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Tel: +98- 912- 5874738, Fax: +98- 21- 22110193, E-mail: Dr_mansour_bayat@yahoo.com



[ Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2025-02-02 ]