

شناسایی و تعیین میزان آلودگی آفلاتوکسین B1 در آرد و سبوس گندم کارخانجات استان البرز

مهدی جهانبخش^۱، افشین افشار^{۱*}، شراره مومنی فعلی^۱، طاهره ابراهیمی^۱، مرتضی میرزایی^۱، ملیحه فرید^۲، مهدیه پایست^۳

^۱ معاونت غذا و دارو دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

^۲ مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر دار دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

^۳ گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۵/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: یکی از عوامل اصلی فساد و تجزیه مواد غذایی قارچ‌ها هستند. عفونت‌های قارچی در گیاهان منجر به کاهش بازده و کیفیت محصول می‌شود که این امر زیان‌های اقتصادی را به دنبال خواهد داشت. آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که در شرایط مناسب می‌توانند مواد غذایی انسان و حیوان را آلوده نمایند، که این مسئله به عنوان یک مشکل بزرگ در زمینه بهداشت و سلامت عمومی در نظر گرفته می‌شود. هدف از این مطالعه تعیین میزان آلودگی آفلاتوکسین B1 در آرد و سبوس گندم کارخانجات استان البرز می‌باشد.

روش بررسی: در این تحقیق ۱۸۰ نمونه آرد گندم در طی فصل تابستان در سه نوبت و همزمان از ۲۰ کارخانه از سه محصول آرد تولیدی تافتون و لواش، آرد بربری و آرد سنگک و بصورت مجزا ۶۰ نمونه سبوس گندم از ۲۰ کارخانه فعال آرد سازی استان البرز جمع آوری شد. نمونه‌های جمع آوری شده از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین B1 توسط HPLC مورد سنجش و بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون ANOVA یک طرفه انجام شد. **یافته‌ها:** بر اساس نتایج به دست آمده، ۱۴۴ نمونه از ۱۸۰ نمونه آرد مورد بررسی و ۵۴ نمونه از ۶۰ نمونه سبوس گندم، به آفلاتوکسین B1 آلوده بودند. آلودگی مذکور در محدوده مجاز استاندارد جهانی و سازمان استاندارد ایران قرار داشت. بیشترین میزان میانگین غلظت آفلاتوکسین B1 در آرد سنگک ۰/۵، آرد بربری ۰/۴ و آرد لواش ۰/۳ نانو گرم بر گرم (ng/g) تعیین گردید. همچنین بیشترین مقادیر این سم در سبوس گندم ۰/۹۹ ng/g شناسایی شد.

نتیجه گیری: تمامی نمونه‌های مورد بررسی در این مطالعه از نظر میزان آفلاتوکسین B1 در حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران و استاندارد جهانی در حد قابل مصرف بود، بنابراین به عنوان عاملی نگران کننده مطرح نیست و خطری مصرف کنندگان را تهدید نمی‌کند.

کلمات کلیدی: آفلاتوکسین B1، آرد گندم، سبوس گندم، HPLC

مقدمه

محصولات غله ای به دلیل خواص تغذیه ای مناسب، نقش بسیار مهمی را در رژیم غذایی انسان و حیوان ایفا می کنند. این گروه از مواد غذایی می توانند درشت مغذی های ضروری (پروتئین، چربی و کربوهیدرات) و همچنین ریز مغذی های مهم (ویتامین ها، مواد معدنی) را برای رشد و سلامت بدن فراهم نمایند^۱. در میان غلات، گندم دارای رتبه نخست در رژیم غذایی مردم ایران می باشد^۲. گندم (*Triticum aestivum* L) متعلق به خانواده Poaceae است که یکی از اصلی ترین مواد غذایی در دنیا محسوب می شود^۳. علاوه بر آن سبوس و دیگر محصولات مرتبط با گندم به عنوان مواد غذایی مفید نیز شناخته می شوند. سبوس گندم، بخشی از پوسته دانه گندم است که محل بسیاری از مواد مغذی گندم می باشد. سبوس معمولاً در فرایند تبدیل گندم به آرد حذف می شود^۴. دانه های گندم در طی مراحل برداشت، نگهداری و حمل و نقل ممکن است به عفونت های قارچی ناشی از آسپرژیلوس، پنی سیلیوم، و فوزاریوم آلوده شوند^۵. به طور کلی، شرایط گرمسیری مانند رطوبت، درجه حرارت بالا، باران های غیر فصلی و سیلاب ها منجر به رشد قارچ ها و در نهایت تولید مایکوتوکسین ها می شوند^۶. این قارچ های پاتوژن موجب بیماری و مانع رشد گیاهان می شوند^۷. تاکنون بیش از ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین متفاوت شناخته شده است. مایکوتوکسین ها متابولیت های ثانویه حاصل از رشد قارچ های مختلف مانند آسپرژیلوس، پنی سیلیوم و فوزاریوم هستند. در میان این متابولیت های ثانویه، آفلاتوکسین ها و اکرآتوکسین آ به عنوان سمی ترین نوع مایکوتوکسین ها در نظر گرفته می شوند^۸. بخش بزرگی از منابع غذایی دنیا که شامل گندم نیز می شود توسط قارچ های آسپرژیلوس آلوده می شوند که این امر باعث کاهش ارزش غذایی محصولات می گردد^۹. در مطالعات متعددی، آلودگی آرد گندم و گندم مورد توجه قرار گرفته است. کالداس در سال ۲۰۰۲ در مطالعه ای که انجام

داد، ۳۶۶ نمونه غذایی از جمله غلات، بادام زمینی و برنج را مورد تجزیه و تحلیل قرار داد که ۱۹.۶ درصد نمونه ها با آفلاتوکسین آلوده بودند^{۱۰}. آفلاتوکسین ها یکی از شناخته شده ترین مایکوتوکسین های تولید شده توسط گونه های قارچی آسپرژیلوس، به ویژه آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس می باشند. زیان های اقتصادی ناشی از آفلاتوکسین ها در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه گزارش شده است. تا کنون ۱۸ نوع مختلف آفلاتوکسین شناخته شده است که مهم ترین انواع آن به چهار گروه شامل آفلاتوکسین B1، B2، G1 و G2 طبقه بندی می شوند^۹. خطرناک ترین نوع آفلاتوکسین متعلق به گروه B1 است. آفلاتوکسین B1 توسط آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (IARC، ۱۹۹۳) در گروه نخست سرطان زایی در انسان طبقه بندی شده است^{۱۱}. شانس از بین رفتن سم آفلاتوکسین در محدوده دمای طبیعی مواد غذایی (دمای ۸۰ تا ۱۲۱ درجه سانتیگراد)، بسیار پایین است و یا حتی دستخوش تغییر نمی شود. بنابراین، در شرایط معمولی پخت و پز، مانند سرخ کردن و جوشاندن و یا حتی پاستوریزاسیون فعال باقی می ماند^{۱۲}. مواجهه انسان با آفلاتوکسین می تواند به طور مستقیم از طریق مصرف محصولات گیاهی و یا به صورت غیر مستقیم از طریق مصرف محصولات حیوانی (گوشت، شیر و تخم مرغ) اتفاق بیفتد^۹. حداکثر میزان قابل تحمل (Maximum (MTL (Tolerated Level) آفلاتوکسین بر طبق استاندارد غذا و دارو اتحادیه اروپا ۲ ng/g برای آفلاتوکسین B1 و ۴ ng/g برای کل آفلاتوکسین ها در نظر گرفته شده است. همچنین بر طبق سازمان استاندارد ملی ایران حد مجاز آفلاتوکسین B1 در گندم ۵ نانوگرم بر گرم می باشد^{۱۳،۱۴}. با توجه به سمیت کشندگی آفلاتوکسین B1 و تأثیر آن بر سلامت انسان، مطالعه حاضر به منظور شناسایی میزان آفلاتوکسین B1 در آرد و سبوس گندم کارخانجات استان البرز توسط HPLC انجام شد. علاوه بر این، میزان سطح آلودگی آن با سطح گزارش شده در

جامعه بین‌المللی مقایسه گردید.

ترازو- با حساسیت ۰/۱ میلی گرم، ستون ایمونوآفینیتی- ستون‌ها دارای آنتی بادی بر علیه آفلاتوکسین B1 بوده و دارای ظرفیت حداقل ۱۰۰ نانوگرم برای آفلاتوکسین B1 باشند، مشتق ساز پس ستون فوتوشیمیایی- مجهز به لامپ UV با طول موج ۲۵۴ نانومتر.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

در مطالعه حاضر، ۱۸۰ نمونه آرد گندم شامل سه نوع آرد بربری، لوآش و سنگگ در طی سه ماه تابستان و ۶۰ نمونه سبوس گندم در ۱۳۹۷ از ۲۰ واحد کارخانجات آرد گندم در استان البرز جمع آوری شد. نمونه برداری بر طبق مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به شماره ۲۸۳۶ (نمونه برداری از محصولات کشاورزی) انجام شد و از نظر وجود آفلاتوکسین B1 با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مورد سنجش و بررسی قرار گرفت. کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده، برای دستگاه کروماتوگرافی و تجزیه آزمایشگاهی مناسب و شرکت مرک (Merck) استفاده شده است.

معرف‌ها و محلول‌ها

محلول فسفات بافر سالین (PBS) با pH= ۷/۴ (جهت تهیه، ۰/۲g کلرید پتاسیم، ۰/۲g فسفات دی هیدروژن پتاسیم، ۱/۱۶g فسفات هیدروژن دی سدیم بدون آب (یا ۲/۹۲g فسفات هیدروژن دی سدیم با ۱۲ مولکول آب)، ۸g کلرید سدیم را در ۹۰۰mL آب مقطر حل و با استفاده از سود ۰/۱M و یا اسید کلریدریک ۰/۱ M، pH را روی ۷/۴ تنظیم کرده، سپس حجم را به ۱ لیتر برسانید).

مواد مصرفی

کلرید سدیم با درجه خلوص ۹۹/۵، کلرید پتاسیم با درجه خلوص ۹۹ درصد، فسفات دی هیدروژن پتاسیم با درجه خلوص ۹۹،۹۵، فسفات هیدروژن دی سدیم ۱۲ آبه با درجه خلوص ۹۹درصد \geq ، فسفات هیدروژن دی سدیم بدون آب با درجه خلوص ۹۹/۵درصد \geq ، هیدروکسید سدیم با درجه خلوص ۹۸ درصد، اسید کلریدریک با درجه خلوص ۳۵ درصد، متانول با درجه خلوص ۹۹/۹درصد \geq ، استونتریل ۹۹/۹درصد \geq و سرنگ میکرولیتری ۱۰۰L، ۱۰L و ۱۰۰۰. مواد مصرفی در مطالعه حاضر همگی از شرکت مرک (Merck, Darmstadt Germany) و آب مقطر مصرفی از deionized water (Millipore, Le montsur-Lausanne, Switzerland) تهیه شده است.

روش کار

مقدار ۵۰ گرم نمونه رو بعد از الک کردن با قطر چشمه ۲ میلی متر با حجمی از متانول: آب (۷/۷ ۸۰:۲۰) برای

روش اندازه‌گیری آفلاتوکسین B1

روش اندازه گیری آفلاتوکسین B1 با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (مدل Alliance Waters 2695 مجهز به آشکارساز فلورسانس) با استفاده از ستون ایمونوآفینیتی و براساس گزارش مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (ISRI) شماره ۶۸۷۲ انجام شد^{۱۴}.

دستگاه‌های مورد استفاده

دستگاه Thermo HPLC (Alliance Waters 2695) و Scientific Heraeus Biofuge Stratos, Langensfeld, ساتریفوژ، مخلوط کن آزمایشگاهی، پمپ کروماتوگرافی مایع- با سرعت جریان ۱/۲mL/min، ستون کروماتوگرافی- مایع با فاز معکوس (۴/۶mm \times ۲۵ cm \times ۵ μ m) مانند LC-18 ODS-2، آشکارساز فلورسانس- دارای صافی با طول موج برانگیختگی ۳۶۵ نانومتر و نشر ۴۳۵ نانومتر یا معادل آن،

یافته‌ها

نتایج به دست آمده از مطالعه ما نشان داد، ۱۴۴ نمونه (۸۰ درصد) از ۱۸۰ نمونه آرد گندم بررسی شده با مقادیر مختلفی به آفاتوکسین B1 آلوده بودند. مقایسه میانگین غلظت آفاتوکسین B1 در آرد بربری، لواش، سنگگ در بین کارخانجات مختلف در جدول یک نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده از جدول ۱ در میان کارخانجات مختلف آرد سازی اختلاف معنی داری مشاهده می‌شود ($P < 0/05$). همچنین در میان نمونه‌های سبوس کارخانجات مختلف نیز تفاوت معنی داری دیده شد ($P < 0/05$). همچنین در مطالعه حاضر، مقایسه غلظت آفاتوکسین B1 در بین گروه‌های آرد بربری (A)، لواش (B) و سنگگ (C) به تنهایی و بدون در نظر گرفتن کارخانجات مختلف انجام شد. نتایج این کار در شکل ۱ آورده شده است. با توجه به یافته‌های به دست آمده مشخص شد که در بین نمونه‌ها در گروه‌های آرد بربری ($0/046 \text{ ng/g}$)، لواش ($0/055 \text{ ng/g}$) و سنگگ ($0/073 \text{ ng/g}$) اختلاف وجود دارد (شکل ۱)، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P > 0/05$). علیرغم مثبت شدن درصد بالای نمونه‌های آرد از لحاظ وجود آفاتوکسین B1، حد مجاز وجود این سم در تمامی نمونه‌ها مطابق با استاندارد ملی ایران بود. به عبارت دیگر هیچ آلودگی در بین نمونه‌های آرد گندم بیش از حد استاندارد جهانی و ملی یافت نشد. همانطور که در جدول ۱ دیده می‌شود، غلظت آفاتوکسین B1 در بین کارخانجات متفاوت است. حداکثر میزان غلظت آفاتوکسین B1 در بین ۲۰ کارخانه آردسازی، در کارخانه شماره ۴ آرد سنگگ، کارخانه شماره ۲۰ آرد بربری و کارخانه شماره ۳ آرد لواش به ترتیب با مقادیر $0/011 \pm 0/5$ ، $0/004 \pm 0/4$ و $0/011 \pm 0/3$ نانوگرم بر گرم بیشترین مقدار حضور این سم را به خود اختصاص دادند. از سوی دیگر در میان ۶۰ نمونه سبوس گندم بررسی شده ۵۴ نمونه (۹۰ درصد) دارای آلودگی با سم آفاتوکسین B1 شناسایی شدند.

استخراج آفاتوکسین مخلوط شد. عصاره به دست آمده فیلتر (Wattman No. 41, Germany) و به دنبال آن سانتریفیوژ گردید. سپس عصاره (۵۰ میلی لیتر) به ستون ایمونوآفینیتی (JAC AflaTest®, Vicam, آمریکا) و با سرعت ۱ میلی لیتر در هر دقیقه جریان داده شد. شستشو با استفاده از حلال شستشو (آب دیونیزه شده، متانول و استونیتریل ۱:۱:۱ V/V/V) برای حذف مواد غیر باند شده انجام شد. در مرحله بعد، محلول استاندارد کالیبراسیون توسط محلول اختصاصی آفاتوکسین B1 تهیه شد. سپس برای تعیین مقادیر آفاتوکسین B1 در سبوس و آرد گندم نمونه‌ها به HPLC تزریق شدند. نمونه‌ها از طریق ستون‌های جذبی عبور داده شدند و نمونه‌های استخراج شده توسط HPLC با ستون C18 و فاز متحرک متشکل از آب، MeOH، استونیتریل (۲۰:۲۰:۶۰ V/V/V) و طول موج آشکارساز ۴۴۰ نانومتر (طول موج نشر) و ۳۶۵ نانومتر (طول موج برانگیختگی) اندازه گیری شدند. تزریق، جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار آفاتوکسین با روش معکوس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با مقایسه سطح زیر منحنی استاندارد با نمونه به صورت ng/g محاسبه شد.^{۱۰}

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، تجزیه و تحلیل آماری برای محاسبه میانگین و انحراف معیار نمونه‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. همچنین جهت تعیین معنی دار بودن داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA استفاده شد. در پژوهش حاضر، مقدار p کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است که نشان دهنده تفاوت معنی داری است. رسم نمودارها با نرم افزار Excel 2013 انجام شد.

مورد بررسی بالاتر بود (جدول ۱). نتایج این تحقیق نشان داد که تنها نوع آرد کارخانجات مختلف در آلودگی موثر بوده است. به عبارتی دیگر، دلیل اصلی آلودگی در این مطالعه به نوع کارخانجات آرد سازی مرتبط می‌شود. این آلودگی می‌تواند بسته به نحوه حمل و نقل، نگهداری و فرایند تولید آرد هر کارخانه متفاوت باشد.

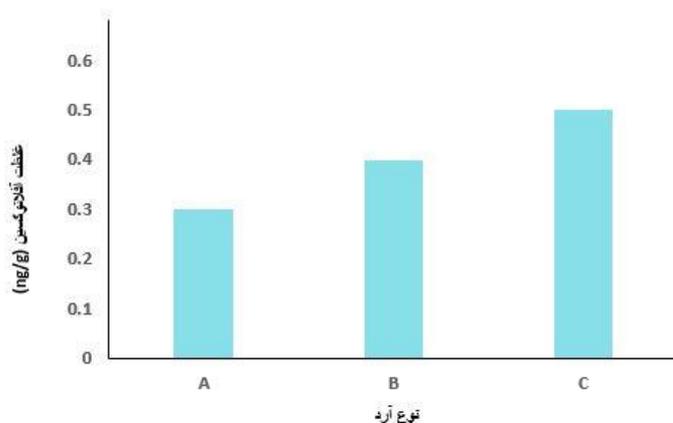
بیشترین مقدار این سم در سبوس گندم $0/99 \pm 0/007$ اندازه گیری شد، این سم در کارخانه شماره ۱۲ و ۱۷ سم شناسایی نشد. درحالیکه میزان آفلاتوکسین B1 در سبوس گندم کمتر از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد غذا و داروی اتحادیه اروپا (۲ نانوگرم بر گرم) و سازمان ملی استاندارد ایران بود (۵ نانوگرم بر گرم) اما مقدار آن در مقایسه با نمونه‌های آرد گندم

جدول ۱: غلظت آفلاتوکسین B1 در نمونه‌های مورد بررسی

کارخانجات	^۱ (Mean±SD) آرد بربری	(Mean±SD) آرد لواش	(Mean±SD) آرد سنگک	سبوس (Mean±SD)
۱	0/11±0/0019	0/11±0/007	0/2±0/001	0/54±0/005
۲	0/2±0/001	0/4±0/0012	0/1±0/007	0/99±0/007
۳	0/11±0/001	0/3±0/011	0/34±0/0012	0/45±0/002
۴	0/38±0/00	0/4±0/0013	0/5±0/011	0/66±0/004
۵	0/2±0/001	ND ^۲	0/18±0/0011	0/2±0/002
۶	0/2±0/0014	0/4±0/002	0/5±0/00	0/39±0/007
۷	ND	ND	ND	0/9±0/001
۸	0/58±0/002	0/2±0/007	0/3±0/001	0/5±0/002
۹	0/1±0/001	0/1±0/005	0/2±0/00	0/9±0/001
۱۰	ND	ND	0/2±0/001	0/17±0/002
۱۱	0/35±0/001	0/54±0/00	0/2±0/00	0/34±0/007
۱۲	ND	ND	0/1±0/001	ND
۱۳	0/3±0/001	0/4±0/0012	0/5±0/001	0/79±0/001
۱۴	0/1±0/0013	0/2±0/001	0/2±0/0011	0/12±0/007
۱۵	ND	0/3±0/0012	0/2±0/0013	0/1±0/002
۱۶	0/1±0/001	0/1±0/00	0/2±0/002	0/3±0/007
۱۷	ND	ND	0/1±0/0013	ND
۱۸	0/2±0/00	0/2±0/0013	0/4±0/0012	0/2±0/0014
۱۹	ND	0/5±0/001	0/1±0/007	0/6±0/00
۲۰	0/4±0/004	0/3±0/0012	0/8±0/008	0/72±0/002

۱- (ng/g)

۲-ND=not detected



شکل ۱: میزان غلظت آفلاتوکسین B1 در بین گروه‌های آرد بربری (A)، لواش (B) و سنگگ (C)

بحث

آفلاتوکسین B1 به عنوان یک سم بسیار خطرناک برای سلامت انسان‌ها و حیوانات در سراسر جهان شناخته می‌شود. این سم می‌تواند در صورت عدم رعایت اصول بهداشتی و کشاورزی در مواد و محصولات غذایی مختلف تولید شود و خطراتی را برای سلامت انسان و حیوان به وجود آورد. در نتیجه کنترل و کاهش سم آفلاتوکسین B1 در جهت ایمنی مواد غذایی برای مصرف کنندگان امری ضروری محسوب می‌شود. وجود آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی باعث عوارضی از قبیل سرطان، سرکوب سیستم ایمنی، جهش زایی، ناقص‌الخلقه‌زایی و مشکلات گوارشی در انسان می‌شوند.^{۱۵} همچنین گزارش شده است، آلودگی حیوانات با آفلاتوکسین منجر به کاهش مصرف خوراک حیوان، افزایش وزن کبد، کلیه و سرکوب سیستم ایمنی در حیوانات مزرعه می‌شود. این امر می‌تواند موجب افزایش مرگ و میر در آنها و آلودگی انسان در نتیجه مصرف شیر و گوشت آنها شود.^{۱۶} یافته‌های مطالعه یزدان پناه و همکاران (۲۰۱۱) که میزان آفلاتوکسین B1 را در غذاهای ایرانی در تهران مورد بررسی قرار دادند، با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا نمی‌باشد. یافته‌های آنها نشان داد، هیچ یک از نمونه‌های آرد نان و گندم به آفلاتوکسین B1 آلوده

نبودند.^{۱۷} در حالی که در مطالعه حاضر ۸۰ درصد نمونه‌های آزمایش شده آرد گندم به آفلاتوکسین B1 آلوده بودند. همانند مطالعه حاضر، در پژوهشی که عزیزی و همکارانش (۲۰۰۷) با هدف بررسی نمونه‌های آرد گندم با استفاده از کیت الایزا انجام دادند آلودگی به آفلاتوکسین مشاهده شد که میانگین میزان غلظت آن ۰/۹۳ نانوگرم بر گرم گزارش شد. اگرچه نتایج آنها نشان داد که مقادیر این سم در ۱۰ نمونه از ۲۲ نمونه آرد گندم مورد بررسی از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد ایران بالاتر است.^{۱۸} زین الدین و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده کردند که طیف وسیعی از آفلاتوکسین B1 در آرد گندم بین مقادیر ۰/۱۵ تا ۰/۰۳ وجود دارد که مقادیر نزدیک به یافته‌های مطالعه حاضر می‌باشد.^{۱۹} در هنگام آسیاب نمودن گندم، با حذف سبوس و قسمت خارجی گندم آرد سفید تولید می‌شود، میزان سموم میکوتوکسین در سبوس گندم و قسمت خارجی آن بیشتر از آرد سفید است که این عامل می‌تواند دلیلی برای مقدار بیشتر سم آفلاتوکسین در نمونه‌های مورد بررسی باشد.^{۲۰} اختلاف در مقادیر اندازه گیری شده آفلاتوکسین در محصولات کشاورزی ممکن است به دلایل شرایط نگهداری، منطقه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و دمای محیط باشد. در تحقیق دیگری طاهری و همکاران

کارخانه شماره ۲ و ۹ که به ترتیب با میانگین ۰/۹۹ و ۰/۹ نانوگرم بر گرم می‌باشد. آرد بربری کارخانه‌های ۲۰ و ۱۱ به ترتیب ۰/۴ و ۰/۳۵ نانوگرم بر گرم آرد تافتون و لوش کارخانه‌های شماره ۳ با داشتن میزان آلودگی ۰/۳ نانوگرم بر گرم و نهایتاً کارخانه شماره ۴ در آرد سنگک با میانگین ۰/۵ نانوگرم بر گرم بالاترین میزان آلودگی را در این زمینه داشتند. میزان درصد استخراج آردها که بسته به مقدار باقیمانده سبوس در آرد و خاکستر تعیین می‌شود می‌تواند در این موضوع موثر باشد. نداشتن اطاعات کافی و دقیق در مورد سیلوی کارخانه‌ها از نظر اختلاط میزان گندم داخلی و وارداتی و عدم کنترل دما و رطوبت طی برداشت و تا ذخیره سازی و فرآوری می‌توان توجهی بر این میزان آلودگی باشد. همانطور که گفته شد اختلاف در مقادیر اندازه گیری و حضور یا عدم حضور این سموم در غلات می‌تواند به دلایلی از جمله حمل و نقل، آلودگی زمین کشاورزی، آلودگی گیاه در زمان کشت، مراحل برداشت و همچنین در زمان پردازش محصول ایجاد گردد، بنابراین با رعایت اصول بهداشتی و استفاده مجاز از سموم ضد قارچی به مقدار قابل توجهی از آلودگی گندم و به دنبال آن آرد و سبوس می‌توان جلوگیری نمود و گامی عملی جهت حفظ سلامت مصرف کنندگان برداشت. خوشبختانه مقادیر بدست آمده در این مطالعه کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران و جهان بود که از لحاظ مصرف ایمن می‌باشد و خطری مصرف کنندگان را تهدید نمی‌کند.

(۲۰۱۲)، ۲۰۰ نمونه آرد گندم را در شمال ایران بررسی نمودند. همانند مطالعه حاضر تحقیق آنها نشان داد که آلودگی به افلاتوکسین B1 در فصول تابستان و زمستان در میان نمونه‌های آرد وجود دارد که مقدار آن در زمستان بیشتر بوده اما میزان این آلودگی بالاتر از حد مجاز سازمان استاندارد ایران نمی‌باشد^{۱۰}. Armoring و همکاران (۲۰۱۴) با هدف بررسی میزان افلاتوکسین B1 آردهای ارگانیک و سنتی را در ایتالیا بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که مقادیر این سم بین ۳/۷۵ تا ۰/۱۷ نانوگرم بر گرم متغیر می‌باشد^{۱۱}. میزان غلظت گزارش شده در کار آنها از مطالعه حاضر و استاندارد جهانی (۲ نانوگرم بر گرم) بالاتر بود. در پژوهش دیگری Kara و همکاران (۲۰۱۵)، میزان شیوع افلاتوکسین و آکراتوکسین آ را در نمونه آردهای گندم، ذرت، و برنج در ترکیه بررسی نمودند. نتایج آنها در تضاد با مطالعه حاضر بود و نشان داد که برخلاف نمونه‌های ذرت در هیچ یک از نمونه‌های آرد گندم و برنج آلودگی به افلاتوکسین‌ها دیده نمی‌شود^{۲۰}.

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین مقادیر سم افلاتوکسین B1 در سبوس گندم نسبت به خود نمونه آردها می‌باشد. میزان افلاتوکسین B1 یافت شده بین ۰/۰۱ تا ۰/۹۹ نانوگرم بر گرم متغیر است و در بین کارخانه‌های مورد نظر بیشترین مقدار آلودگی افلاتوکسین B1 در سبوس گندم

References

1. Iqbal SZ, Rabbani T, Asi MR, Jinap S. Assessment of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in breakfast cereals. *Food Chem* 2014; 157: 257-62.
2. Sheykhi A, Pirdashti H, Abbasian A, Niknejhad Y. Segregation of some wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using cluster analysis procedure. *Int J Farm Alli Sci* 2014; 3: 225-9.
3. Cheli F, Pinotti L, Novacco M, Ottoboni M, Tretola M, Dell'Orto V. Mycotoxins in Wheat and Mitigation Measures. *Wheat Improvement, Management and Utilization* 2017; 25: 227.
4. Farajzadeh MA, Monji AB. Adsorption characteristics of wheat bran towards heavy metal cations. *Sep Purif Technol* 2004; 38(3): 197-207.
5. Warth B, Parich A, Atehnkeng J, et al. Quantitation of mycotoxins in food and feed from Burkina Faso and Mozambique using a modern LC-MS/MS multitoxin method. *J. Agric. Food Chem.* 2012; 60(36): 9352-63.

6. Bhat RV, Vasanthi S. Mycotoxin food safety risk in developing countries, 2003.
7. Weber R, Hrynczuk B, Runowska-Hrynczuk B, Kita W. Influence of the mode of tillage on diseases of culm base in some winter wheat varieties, oats and spring wheat. *Journal of Phytopathology* 2001.
8. Sweeney MJ, Dobson AD. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Int J Food Microbiol* 1998; 43(3): 141-58.
9. Okafor S, Eni A. Microbial Quality and the Occurrence of Aflatoxins In Plantain/Yam And Wheat Flours In Ado-Odo Ota. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; 2018: IOP Publishing; 2018. p. 012017.
10. Taheri N, Semnani S, Roshandel G, et al. Aflatoxin contamination in wheat flour samples from Golestan Province, Northeast of Iran. *Iran J Public Health* 2012; 41(9): 42.
11. WHO, International Agency for Research on Cancer (IARC), Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum Suppl* 1993; 56.
12. Miličević DR, Škrinjar M, Baltić T. Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins (Basel)* 2010; 2(4): 572-92.
13. European Commission Regulation (EC). Amending Regulation (EC) No 1881/2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards aflatoxins. *Off J Eur Union* ;L50:8e12. 2010.
14. Institute of standards and industrial research of Iran (ISIRI), Food and Feed- Mycotoxins: Maximum tolerated level, Tehran, Iran, pp. 3-20. 2002.
15. Bhat RV. Human health problems associated with current agricultural food production. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17(S1): 91-4.
16. Duarte S, Almeida A, Teixeira A, et al. Aflatoxin M1 in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal exposure. *Food Control* 2013; 30(2): 411-7.
17. Yazdanpanah H, Zarghi A, Shafaati AR, et al. Analysis of aflatoxin B1 in Iranian foods using HPLC and a monolithic column and estimation of its dietary intake. *Iran J Pharm Res* 2013; 12(Suppl): 83.
18. Zaboli F, Gholampour AI, Rouhi S, Azimi M. Determination Of Aflatoxin In Wheat Flour Samples By Elisa In Chalus City (Mazandaran Province). 2014.
19. Zinedine A, Juan C, Soriano J, Molto J, Idrissi L, Manes J. Limited survey for the occurrence of aflatoxins in cereals and poultry feeds from Rabat, Morocco. *Int J Food Microbiol* 2007; 115(1): 124-7.
20. Kara GN, Ozbey F, Kabak B. Co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in cereal flours commercialised in Turkey. *Food Control* 2015; 54: 275-81.
21. Armorini S, Altafini A, Zaghini A, Roncada P. Occurrence of aflatoxin B1 in conventional and organic flour in Italy and the role of sampling. *Food Control* 2015; 50: 858-63.

Determination of Aflatoxin B1 in Wheat Flours Factories of Alborz Province, Iran

Mehdi Jahanbakhsh¹, Afshin Afshar^{1*}, Sharare Momeni Feeli¹, Tahereh Ebrahimi¹,
Morteza Mirzaei¹, Maliheh Farid², Mahdieh Pabast³

1. Food & Drug Administration, Alborz University of Medical Sciences, Karaj Iran

2. Non-Communicable Diseases Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

3. Department of Environmental Health Engineering, Division of Food Safety and Hygiene, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran

* E-mail: fshnfshr@gmail.com

Received: 11 Aug. 2019 ; Accepted: 13 Nov. 2019

ABSTRACT

Background: Fungi are one of the main causes of degradation in feeds and foodstuffs. Fungal infections in plants can result in reduced yield and quality of the products, which lead to economic losses. AflatoxinB1 (AFB1) is a secondary fungal metabolite produced in proper conditions. It is considered as a public health concern due to its adverse effect on human and animal. This study was carried out to determination of AFB1 in wheat flour and wheat bran samples of Alborz province factories.

Methods: A total of 180 wheat flour and 60 wheat bran samples were collected from 20 Alborz province factories. HPLC method with immune-affinity chromatography was applied to measure AFB1 in three types of flour including Barbary, Tafton, and Sangag (A, B, and C). It was performed both in different manufactures and within three groups of flours regardless of the type of manufactures. Statistical analysis was conducted by the One-way ANOVA with post-hoc test.

Results: According to the findings, 144 out of 180 wheat flour samples and 54 out of 60 wheat bran samples were found to be contaminated with AFB1. The amount of AFB1 in wheat flour and wheat bran samples was detected to be 0.01-0.5 ng/g and 0.06-0.99 ng/g, respectively. The highest means of AFB1 in Sangag, Barbary, and Tafton flours from different manufactures were 0.5, 0.4 and, 0.3 ng/g, respectively. In addition, no significant difference was found within three groups of Barbary (A), Tafton (B), and Sangag (C) flours samples ($p>0.05$). Despite the contamination of wheat flour and wheat bran samples, there was no contamination higher than the standard limit of Iran Standard Institute (ISRI) and European Union (EU) 2 ng/g, 5 ng/g, respectively.

Conclusions: Since wheat flours are widely used in foods preparation, determination of contamination with AFB1 in wheat-based products is highly essential in order to prevent the potential adverse effects on health. As the level of AB1 in the current study was low, it is not a serious concern for consumers at this time.

Keywords: Aflatoxin B1, Wheat Flour, Wheat bran & HPLC