

اندازه گیری میزان آفلاتوکسین B₁ در آرد های نانوائی شهر قم

مزگان سقزاده *^۱، فاطمه خانه بگی ^۲، مجید ریاضی پور ^{۳،۴}

۱ گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران.

۲ دانشجو کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران.

۳ گروه انگل و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران،

۴ مرکز تحقیقات میکروبیشناسی کاربردی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

چکیده

هدف: مایکوتوکسین ها متابولیت های ثانویه ای هستند که توسط قارچ های رشته ای تولید می گردند. آفلاتوکسین ها شناخته شده ترین آن ها بوده و آفلاتوکسین B₁ یکی از قوی ترین هپاتوکارسینوژن های شناخته شده در طبیعت است. آن ها دارای اثرات کارسینوژنیک، موتاژنیک و تراژنیک هستند. آرد هایی که تحت شرایط نامناسب دمایی و رطوبتی طی رشد، برداشت و انبارداری قرار می گیرند، نسبت به آلودگی با آفلاتوکسین B₁ مستعد هستند. بنابراین بهداشت آرد از لحاظ میکروبی، برای مصرف کنندگان، حائز اهمیت است. هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی آرد نانوائی های شهر قم به سم آفلاتوکسین B₁ بوده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی در تابستان سال ۹۳ تعداد ۸۴ نمونه آرد گندم از ۸۴ نانوائی در شهر قم به طور تصادفی جمع آوری و میزان آفلاتوکسین B₁، در آن ها با استفاده از روش الیزای رقابتی اندازه گیری شد. همچنین اطلاعاتی در مورد نوع آرد مصرفی و مدت زمان ماندگاری آرد جمع آوری شد. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری Spss و نرم افزار curve و Excel و آزمون t-student مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج: از تعداد ۸۴ نمونه، ۷۸ نمونه (۹۸/۲٪)، به مقادیری از آفلاتوکسین B₁ آلوده بودند، که از این تعداد ۵۱ نمونه (۶۰/۷٪)، دارای آلودگی بیش از حد مجاز تعیین شده توسط ایران (۵ppb) و اتحادیه اروپا (۲ppb) بود. میانگین غلظت این آفلاتوکسین در کل نمونه ها ۵/۹ میکروگرم در کیلوگرم با انحراف معیار ۲/۸۴ تعیین گردید.

نتیجه گیری: میانگین میزان آلودگی به آفلاتوکسین B₁ در آردهای مورد استفاده برای تهیه نان بیش از حد مجاز بود، لذا نیاز به کنترل و ارزیابی مستمر میزان آفلاتوکسین B₁ در آرد مصرفی نانوائی ها ضروری بنظر می رسد.

واژه های کلیدی: آفلاتوکسین B₁، آرد گندم، نان، الیزا

واژه مایکوتوکسین از دولغت یونانی Mykes به معنای قارچ و Toxicum به معنای سم ریشه می گیرد. این ترکیبات بسیار سمی بوده و علائم سمی آن ها به دنبال خوردن غذای آلوده توسط انسان و حیوان آشکار می شود. این ترکیبات در مراحل پایانی رشد قارچ های رشته ای بوسیله سلول های قارچی تولید می شوند. این گونه متابولیت ها که تحت عنوان متابولیت ثانویه شناخته شده اند ظاهراً برای خود سلول قارچی هیچ گونه فایده ای ندارند و برای رشد قارچ ضروری نمی باشند. در مقابل، متابولیت های اولیه نظیر اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، قندها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین ها برای تمام ارگانیسم های زنده ضروری هستند. متابولیت های ثانویه پراکندگی محدودی داشته و الزاماً در تمامی گونه های مربوط به یک خانواده حضور ندارند. این مواد از نظر ساختمانی، ترکیبات آلی نسبتاً کوچک دارای ساختمان شیمیایی پیچیده محسوب می شود (۱).

عواملی که در میزان تولید مایکوتوکسین ها موثر می باشند به عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک تقسیم شده اند. عوامل فیزیکی، عواملی را در بر می گیرد که بر روی وضعیت محیطی موثر در ایجاد کلنی های قارچی مانند دما، رطوبت نسبی و آلودگی با حشرات تاثیر گذار می باشد از اثرات شیمیایی میتوان به کاربرد انواع قارچ کش ها اشاره نمود و از اثرات بیولوژیک میتوان تاثیرات سایر گونه های قارچی در زمان رشد آسپرژیلوس اشاره نمود (۲).

در حال حاضر ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین مختلف شناسایی شده اند که از نظر ساختمانی متفاوتند در میان ۴۰۰ مایکوتوکسین شناخته شده، آفلاتوکسین به دلیل اثرات شدید سم زایی، سرطان زایی، نقص در جنین و جهش زایی آن، خطرناک ترین سم برای سلامتی انسان می باشد (۳،۴). این مواد مولکول های پیچیده ای هستند که ساختمان آن ها از حلقوی منفرد با وزن مولکولی ۵۰ دالتون، تا گروه های ۶ و ۸ حلقه ای با وزن مولکولی بیش از ۵۰۰ دالتون متفاوت است (۵).

آفلاتوکسین ابتدا در سال ۱۹۶۰ شناسایی شد، زمانی که مرگ انبوه بوقلمون ها در انگلستان و به دنبال آن مرگ حیوانات دیگر اتفاق افتاد. بطوریکه بیش از ۱۰۰۰۰۰ بوقلمون طی چند ماه تلف شدند (۶). ابتدا این بیماری به عنوان بیماری X بوقلمون نامیده شد چرا که علت مرگ ناشناخته بود، بعدها معلوم شد که تمامی پرندگانی که آلوده شده بودند از دانه های آلوده تغذیه کرده بودند. آزمایش میکروبیولوژی دانه ها آلودگی آن ها را با قارچ آسپرژیلوس فلاووس نشان داد و در نتیجه توکسین به نام آفلاتوکسین نام گرفت (۷) «آ» در لغت آفلا مربوط به جنس آسپرژیلوس و سه حرف «فلا» مربوط به گونه فلاووس می باشد و عبارت توکسین نیز اشاره به سم زائی آن می کند این سموم منشأ بیولوژیکی داشته و دارای خواص آنتی ژنی هستند که باعث آفلاتوکسیکوز در انسان و حیوان می گردد (۱).

انواع مختلفی از آفلاتوکسین ها شناسایی شده است که در ساختمان همه آن ها دو حلقه فوران و یک هسته کومارین متصل به ساختمان لاکتون وجود دارد. از انواع مهم آفلاتوکسین ها می توان به آفلاتوکسین های B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ اشاره

نمود (۸ ؛ ۹). آفلاتوکسین B₁ یکی از قوی ترین هپاتوکارسینوژن های شناخته شده در طبیعت است که توسط (IARC) در گروه کارسینوژن های گروه I رده بندی شده است. آفلاتوکسین ها سبب القا سرطان در اندام ها به خصوص کبد می شوند شرایط نامناسب دمایی و رطوبتی طی رشد، برداشت و انبارداری ماده غذایی یا خوراک دام موجب رشد کپک در آن ها و در نتیجه آلودگی با آفلاتوکسین می شود (۱۰). آفلاتوکسین ها به طور گسترده ای در محصولات کشاورزی و غذایی وجود داشته و در حیوانات و انسان باعث ایجاد مسمومیت های حاد و مزمن منجر خواهد شد (۱۱). اثرات کارسینوژنیک، تراژونیک و توکسیک سم آفلاتوکسین برای اغلب حیوانات و انسان ها به اثبات رسیده است (۱۲). این ماده باعث تخریب DNA، موتاسیون ژن ها، آنومالی کروموزومی و تغییرات سلولی در سلول های پستانداران می گردد (۱۳). جلوگیری از تشکیل آفلاتوکسین ها قبل از برداشت محصول مشکل می باشد. بنابراین وجود آفلاتوکسین ها در غذاها و علوفه به عنوان یک خطر همیشگی در نظر گرفته می شود.

آفلاتوکسین ها به وسیله سه گونه قارچ *آسپرژیلوس فلاوس*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *آسپرژیلوس نومیوس* تولید می شوند (۱۵،۱۴).

از نظر تولید سم معمولاً گونه *آسپرژیلوس فلاووس* در رده اول و گونه *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* در رده دوم می باشد. اختلاف اصل تولید سم بین دو گونه *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* در این است که معمولاً *پارازیتیکوس* نوع G را به خوبی نوع B تولید می کند. تحقیقات اخیر نشان داده که آفلاتوکسین ها توسط نوعی *آسپرژیلوس* به نام *آسپرژیلوس نومیوس* نیز تولید می شود (۱۶). *آسپرژیلوس نومیوس* بسیار شبیه *آسپرژیلوس فلاووس* است قادر به تولید آفلاتوکسین های B₁ و B₂ و G₁ و G₂ می باشد (۱۷).

روش هایی که برای جلوگیری از آلودگی قارچی و تولید سم در آرد موثر واقع شود شستشوی گندم و حرارت دادن گندم خشک (۱۱۵ تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد) قبل از آرد نمودن آن می تواند باعث کاهش میزان آفلاتوکسین B₁ شود (۱۸) و رعایت یک چرخه کنترل بهداشتی دقیق است که باید در مراحل تولید، بهداشت پرسنل، رعایت بهداشت در حین حمل و نقل و نگهداری مواد خام اولیه، رعایت بهداشت در نگهداری محصول، رعایت بهداشت وسایل بسته بندی، برای تأثیر گذاری جهت کاهش فسادهای قارچی و میکروبی است. در این مورد درجه حرارت انبار بایستی کمتر از ۲۰ درجه سانتیگراد باشد و توصیه می گردد که از آردها با کیفیت میکروبی قابل قبول به خصوص آردهایی که تعداد اسپور باکتری های مقاوم به حرارت آن ها کم باشد استفاده شود (۱۹،۲۰).

به طور کلی در سال ۱۹۹۶، اتحادیه اروپا (EC) میزان مجاز آفلاتوکسین در دانه های خوراکی را به این ترتیب، ابلاغ کرد که پس از مرحله آماده سازی اولیه و موقعی که مواد غذایی آماده مصرف است این میزان برای آفلاتوکسین B₁ و چهار نوع آفلاتوکسین طبیعی نباید به ترتیب از ۲ و ۴ میکروگرم در کیلوگرم تجاوز کند

سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) در خصوص میزان مجاز آفلاتوکسین‌ها در غذای انسان و دام به منظور حذف اجناس تقلب و آلوده، دستورالعمل‌هایی را تدوین کرده است. این سازمان حداکثر میزان مجاز آفلاتوکسین‌ها را در خوراک انسان و دام ۲۰ ppb (میکروگرم در کیلوگرم) و در شیر خام ۵/۵ ppb (میکروگرم در کیلوگرم) اعلام نموده است (۲۱). در ایران حد مجاز آفلاتوکسین B₁ در گندم و ذرت ۵ میکروگرم در کیلوگرم و مجموع آفلاتوکسین‌ها ۲۰ میکروگرم در کیلوگرم است (۲۲، ۲۳).

روش کار

مطالعه حاضر به صورت مقطعی و توصیفی (Cross sectional study) انجام شد. و شامل سه بخش بود. بخش نمونه گیری که در محل‌های نمونه گیری (نانوایی های شهر قم) انجام گرفت. بخش آماده سازی نمونه‌ها و عصاره گیری که در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم انجام گرفت. و بخش اندازه گیری میزان آفلاتوکسین B₁ موجود در نمونه‌ها، با استفاده از تکنیک الیزا که در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پزشکی بقیه الله انجام گرفت.

۱. نمونه گیری

در طول انجام این پژوهش به طور تصادفی به ۸۴ نانوایی در نقاط مختلف شهر قم جهت جمع آوری نمونه های آرد مراجعه شد نمونه‌های آرد مستقیماً از خود نانوایی ها خریداری شد و از هر نمونه در ظرف‌های کشت استریل ریخته شد. تمام ظرف‌های کشت استریل براساس آدرس نانوایی هاشماره گذاری شدند و در آزمایشگاه تا زمان بررسی در یخچال در دمای ۴-۶ °C نگهداری شدند.

۲. آماده سازی و عصاره گیری

۵ گرم آرد وزن شد و درون ارلن ریخته شد، و به آن ۲۵ میلی لیتر محلول متانول ۷۰٪ اضافه شد با دستگاه شیکر به مدت زمان ۳ دقیقه در دمای آزمایشگاه شیک شد، با استفاده از فیلتر واتمن شماره یک محلول فوق فیلتر شد. برای ۸۴ نمونه آرد، تمام مراحل عصاره گیری انجام شد. با استفاده از سمپلر ۱ سی سی از محلول متانول و آرد درون لوله فالکون و ۱ سی سی آب مقطر درون تیوپ اپندروف ۲ سی سی ریخته شد، سپس در یخچال، در دمای ۴-۶ °C برای آزمایشات بعدی نگهداری شد.

۳. اندازه گیری میزان آفلاتوکسین B₁

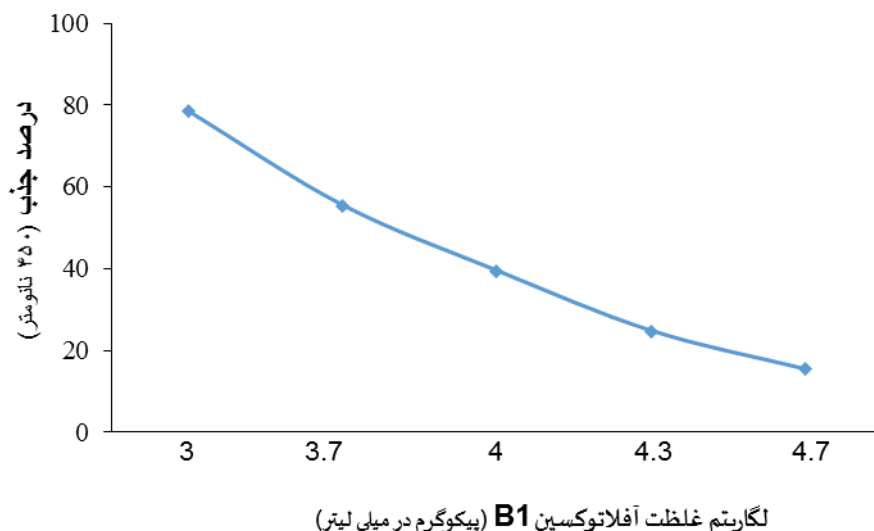
برای اندازه گیری سم در نمونه‌ها از یک روش الیزای رقابتی استفاده شد. برای این کار کیت الیزا Aflatoxin B₁ ساخت کمپانی R-Biopharm آلمان به کار رفت و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. به این منظور ۵۰ میکرولیتر از هر استاندارد و نمونه های آماده سازی شده به کمک سمپلر به حفره های میکروپلیت اضافه شد (برای هر استاندارد و نمونه سرسمپلر جداگانه مورد استفاده قرار گرفت). ۵۰ میکرولیتر آنزیم کانزوگیت و ۵۰ میکرولیتر

محلول آنتی بادی ضد آفلاتوکسین B₁ به حفره های میکروپلیت اضافه شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه به دور از نور مستقیم و در انکوباتور ۲۵ - ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس مایع موجود در میکروپلیت خارج شده و با ضربه زدن ملایم به میکروپلیت و قرار دادن آن به شکل وارونه بر روی کاغذهای جاذب رطوبت، مایع موجود در حفره ها به طور کامل تخلیه شد، سپس همه حفره ها با ۲۵۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، شسته شد (عمل شستشو سه بار تکرار گردید) و هر بار بعد از تخلیه مایع شستشو میکروپلیت به طور وارونه بر روی چند لایه دستمال کاغذی قرار می گرفت تا کاملاً باقیمانده آب شستشو خارج شود به این ترتیب موادی که بعد از این مدت در واکنش شرکت نکرده اند خارج شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول کروموزن به هر حفره اضافه شد و میکروپلیت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد در تاریکی گرم خانه گذاری شد. در نهایت برای توقف واکنش محلول متوقف کننده به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به حفره ها اضافه شد و میزان جذب هر نمونه با الیزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت و اطلاعات مربوط به میزان جذب (OD) هر حفره به تفکیک ثبت شد. با کسر میزان جذب نمونه ها و استانداردها بر میزان جذب استاندارد صفر، ضرب در ۱۰۰، درصد جذب به دست آمد. بر اساس درصد جذب نمونه های استاندارد در نرم افزار Curve غلظت آفلاتوکسین B₁ در مقیاس میکروگرم در کیلوگرم به دست آمد.

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار Curve و Spss و Excel و آزمون t-student آنالیز گردید.

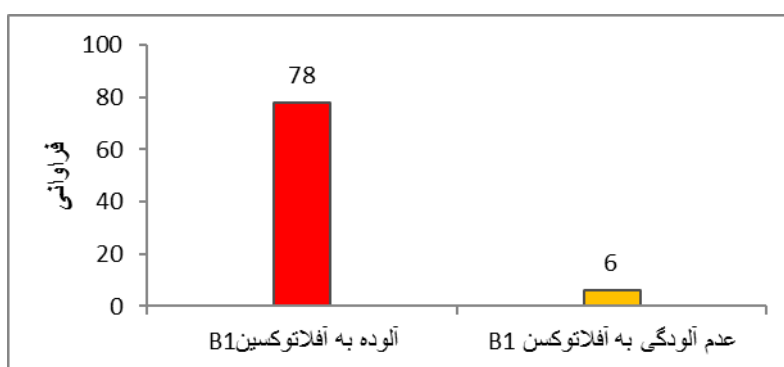
نتایج:

نمودار ۱ منحنی استاندارد تهیه شده برای اندازه گیری آفلاتوکسین B₁ در آرد نانوائی ها را نشان می دهد. قرار دادن لگاریتم غلظت نمونه های استاندارد تعبیه شده در کیت، در مقابل میانگین درصد جذب ۴۵۰ نانومتر، همواره یک منحنی با ضریب هم بستگی بیش از ۰/۹۹ بدست می آورد، که به عنوان منحنی استاندارد برای اندازه گیری مقدار سم موجود در نمونه های آرد نانوائی مورد استفاده قرار گرفت.



نمودار ۱. منحنی استاندارد برای محاسبه غلظت آفلاتوکسین B₁ در نمونه‌های مجهول

از مجموع ۸۴ نمونه مورد آزمایش، ۷۸ نمونه به مقادیری از آفلاتوکسین B₁ آلوده بودند میانگین میزان سم آفلاتوکسین B₁ در نمونه‌های آرد ۵/۹ میکروگرم در کیلوگرم با انحراف معیار ۲/۸۴، تعیین گردید. بیشترین میزان سم آفلاتوکسین B₁، ۱۲/۶ میکروگرم در کیلوگرم کمترین میزان سم آفلاتوکسین B₁، ۰ میکروگرم در کیلوگرم تعیین گردید.



نمودار ۲. فراوانی نمونه‌ها بر اساس آلودگی به آفلاتوکسین B₁

بیشترین میزان آفلاتوکسین مربوط به آرد سنگک با غلظت ۶/۹ میکروگرم بر کیلوگرم و انحراف معیار ۲/۴۷ و به ترتیب آرد لواشی با غلظت ۶/۶ میکروگرم بر کیلوگرم و انحراف معیار ۳/۶۲، آرد تافتون با غلظت ۵/۳ میکروگرم بر کیلوگرم و انحراف معیار ۲/۰۳، آرد بربری با غلظت ۴/۷ میکروگرم بر کیلوگرم و انحراف معیار ۲/۵۷ بود.

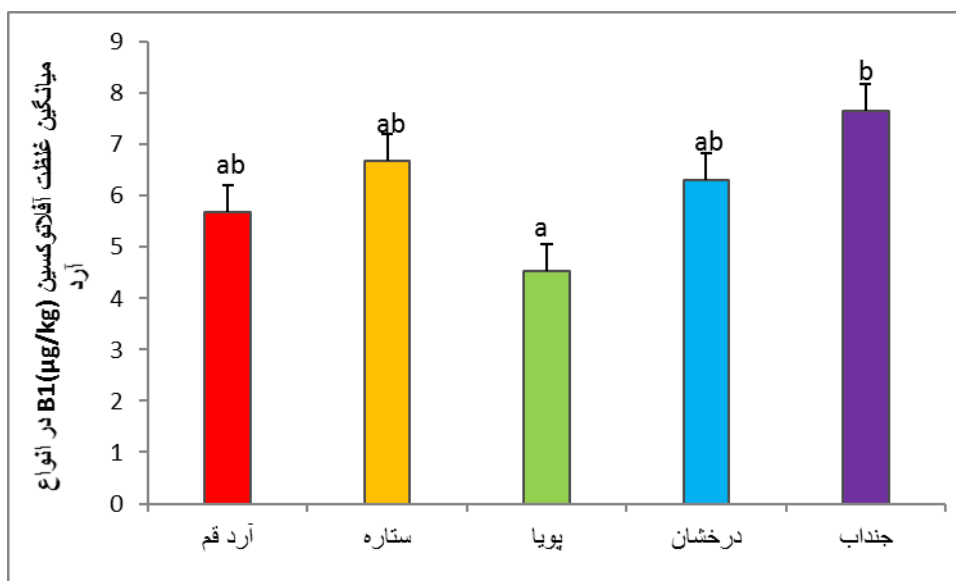
جدول ۱. میانگین غلظت آفلاتوکسین B₁ (µg/kg) در انواع نان

میانگین غلظت آفلاتوکسین B ₁ (µg/kg) در انواع نان		
انحراف معیار	میانگین	نوع نان
۲/۴۷	۶ / ۹	سنگگ
۲/۵۷	۴ / ۷	بربری
۳/۶۲	۶ / ۶	لواشی
۲/۰۳	۵ / ۳	تافتون

میانگین غلظت آفلاتوکسین B₁ در انواع آرد مصرفی جنداب، ستاره، درخشان، آرد قم و پویا به ترتیب ۷/۶، ۶/۶، ۶/۳، ۵/۶، ۴/۵ میکروگرم بر کیلوگرم بود.

جدول ۲. میانگین غلظت آفلاتوکسین B₁ (µg/kg) در انواع آرد مصرفی

میانگین غلظت آفلاتوکسین B ₁ (µg/kg) در انواع آرد مصرفی		
انحراف معیار	میانگین	نوع آرد مصرفی
۲/۴۳	۵ / ۶	آرد قم
۳/۰۲	۶ / ۶	ستاره
۲/۷۵	۴ / ۵	پویا
۲/۸۷	۶ / ۳	درخشان
۲/۸۲	۷ / ۶	جنداب

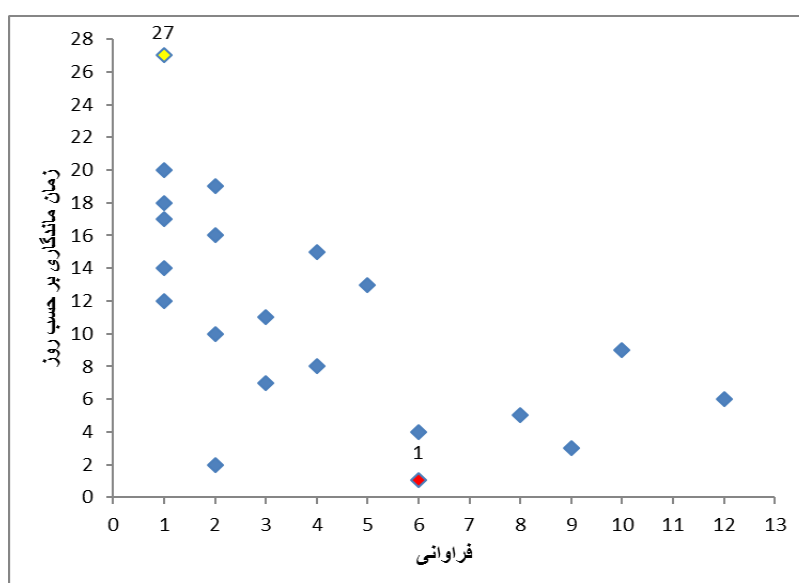


نمودار ۳. میانگین غلظت آفلاتوکسین B₁ در انواع آردها

میانگین زمان ماندگاری در نانواپی ها ۸ روز و انحراف معیار ۵/۲۴ به دست آمد، کمترین میزان نگهداری یک روز بیشترین میزان نگهداری ۲۷ روز بود که بین زمان ماندگاری و میزان آفلاتوکسین B₁ همبستگی وجود ندارد.

جدول ۳. میانگین زمان ماندگاری نمونه ها در نانواپی ها

انحراف معیار	میانگین زمان ماندگاری	تعداد نمونه
۵/۲۴	۸	۸۴



نمودار ۴. فراوانی نمونه ها بر اساس میزان سم آفلاتوکسین B₁ بر حسب زمان ماندگاری

بحث و نتیجه گیری:

در این مطالعه ما به بررسی میزان سم آفلاتوکسین B₁ در آرد مصرفی نانوایی ها در شهر قم پرداختیم. زیرا که آرد گندم ماده اصلی در تهیه نان است،

آلودگی گندم و آرد گندم به آفلاتوکسین در بررسی های متعدد و محدودی در ایران و جهان مورد توجه قرار گرفته است. نتایج ما نشان داد که ۹۲/۸٪ نمونه های آرد تهیه شده در این مطالعه به آفلاتوکسین B₁ آلودگی داشتند که ۶۰/۷٪ دارای آلودگی بیش از حد مجاز تعیین شده توسط ایران (۵ppb) و اتحادیه اروپا (۲ppb) بود. و طیف این آلودگی ۰/۰-۱۲/۶ ppb (میانگین ۵/۹) بود.

در حالیکه گزارشات مختلفی که در مورد شیوع آلودگی گندم و آرد گندم به آفلاتوکسین B₁ وجود دارد نتایج متفاوتی حاصل شده است، از جمله در سال ۱۳۹۱ نسرین بیطرفان قمی در بررسی میزان آفلاتوکسین B₁ در آردهای سوهان پزی شهر قم ۱۰۰ درصد نمونه ها دارای آلودگی بود (۲۴). در آنکارای ترکیه Baydar و همکاران در سال ۲۰۰۵، بر روی ۲۵ نمونه آرد گندم، آرد غلات و نشاسته آلودگی نمونه ها ۶۴ درصد بود (۲۵). در بررسی که توسط آیدین و همکاران در سال ۲۰۰۸، بر روی ۱۰۰ نمونه آرد گندم در ترکیه انجام شد، ۲۰ درصد نمونه ها آلوده بودند (۲۶). و در بررسی که در سال ۲۰۱۰ توسط Cristina و همکاران بر روی ۵۶ نمونه غلات (۲۵ نمونه ذرت، ۱۲ نمونه گندم، ۱۰ نمونه جو، ۹ نمونه جوی دوسر) در جنوب شرقی رومانی انجام گرفت آفلاتوکسین B₁ در ۲۰٪، ۱۶/۶۶٪، ۲۲٪ از نمونه های ذرت، گندم و جو شناسایی شد (۲۷). Giray و همکاران در سال ۲۰۰۷، بر روی ۴۱ نمونه دانه گندم میزان آلودگی ۴۲٪ گزارش کردند (۲۸). در بررسی Ayalew و همکاران در سال ۲۰۰۶ در اتیوپی آفلاتوکسین B₁ در ۸/۸٪ از ۳۵۲ نمونه غلات و ۴/۲٪ از ۱۲۰ نمونه گندم تعیین کردند (۲۹). در سال ۲۰۰۶ در هند Toteja و همکاران بر روی ۱۶۴۶ نمونه دانه گندم میزان آلودگی ۵۶/۳٪ بود (۳۰). در سال ۲۰۰۲ Escobar و همکاران نیز در کشور کوبا مشخص نمودند که ۲۵٪ از نمونه های گندم آلوده به آفلاتوکسین B₁ بودند (۳۱). در مطالعه ای که توسط هدایتی و همکاران در سال ۱۳۸۱ بر روی ۱۱۸ نمونه گندم در انبارهای مازندران انجام شد، آفلاتوکسین B₁ در ۲/۵۴ درصد نمونه های گندم شناسایی شد (۳۲).

در بررسی Abdullah و همکاران در سال ۱۹۹۸ در کشور مالزی بر روی ۸۳ نمونه آرد گندم، ۱/۲ در صد از نمونه های آرد گندم به آفلاتوکسین B₁ آلوده بودند (۳۳). ویلا و مرکاکی در سال ۲۰۰۹ به بررسی میزان سم آفلاتوکسین B₁ در ۵۵ نمونه غلات صبحانه موجود در فروشگاه های شهر آتن پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در ۵۶/۳ در صد از نمونه ها آفلاتوکسین B₁ وجود دارد (۳۴). در بررسی خانه زاد یزدی از ۴۳۸ نمونه گندم جمع آوری شده از انبارها وسیلوهای مناطق مختلف ایران فقط ۲ نمونه را آلوده به آفلاتوکسین B₁ یافتند (۳۵). در بررسی Tam و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ۳۴۹ نمونه غلات صبحانه و غلات کودکان، آفلاتوکسین B₁ را در ۵۰٪ نمونه ها شناسایی کردند (۳۶). در بررسی که توسط یزدان

پناه و همکاران بر روی ۱۴ نمونه جو و ۹ نمونه ذرت، خوراک دام از استان های گلستان و مازندران انجام دادند، آفلاتوکسین B₁ در ۸/۸۸ درصد از نمونه های ذرت شناسایی شد (۳۷). در سال ۱۳۹۰ دکتر کیوان کوهیان در بررسی میزان آفلاتوکسین B₁ در برنج و آرد گندم موجود در انبارهای مواد غذایی یگان های نزاجا در تهران به ترتیب ۴/۳۷٪، ۸/۱۲٪ آلوده بودند (۳۸).

بنا به گزارش تامسون و هنگ در سال ۲۰۰۰، که تولید آفلاتوکسین در صورت وجود شرایط مناسب بدون توجه به طول مدت ذخیره و شرایط آب و هوایی انجام می گیرد (۳۹). نتایج ما نیز نشان داد که طول مدت ذخیره در کاهش و افزایش تولید آفلاتوکسین B₁ نقشی ندارد. میانگین مدت زمان ماندگاری آرد ۸ روز با انحراف معیار ۵/۲۴ تعیین گردید.

در مجموع نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده نشان می دهد که گندم و فراورده حاصل از آن، آرد گندم، در بسیاری از کشورهای جهان به مقادیری از آفلاتوکسین B₁ آلوده هستند، وجود آفلاتوکسین حتی زمانی که میزان مصرف کشنده نیست، بطور جدی باعث آسیب رساندن به سلامت می شود. از این رو نیاز به کنترل و ارزیابی مستمر میزان آفلاتوکسین در مواد اولیه و محصول نهایی بر پایه غلات ضروری به نظر می رسد.

منابع:

- 1- Ellis, W.O., Smith, J.P., Simpson, B.K. Aflataxins in food. Occurrence, biosynthesis, effects on organism, detection, and methods of control. *Critical review in food science and nutrition*, (1991) **30(3)**:403-43.
- 2- Ismail Y.; S. Ruston. .1996; Aflatoxin in food and feed: Occurrence, Legislation and inactivation by physical methods. *Food chemistry* 59 (1) 57-67.
- 3- Pariza, W. M. (1996). Toxic substances. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (3rd ed., pp. 825–841). New York: Marcel Dekker.
- 4- Chu, F. S. (1997). Mode of action of mycotoxins and related compounds. . *Advances in Applied Microbiology*, 40, 352–357.
- 5- Concon J. M., 1988; contaminants and additives food toxicology. Part B; New York: marcel Dekker Inc; p: 667-743.
- 6- Cardis E., Wild C. P., Moolgavkar S.; 2001; aflatoxin and liver cancer; *Lyon*; 2002; 62, 8-10.
- 7- Moore-landecker E. *Fundamentals of the Fungi*. Printice Hall. Fourth Edition, 1996: 467-479.

- 8-Farombi EO. Review-Aflatoxin contamination of foods in developing countries: Implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies. *African Journal of Biotechnology*. 2006; 5:87-103.
- 9-Mehan VK, D McDonald, LJ Haravu, S Jayanthi. The groundnut aflatoxin problem .Review and literature database. *International Crops Research Conference for the Semi-arid Tropics*. 1991.
- 10-Creppy E. E., 2002; update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe; *Toxicol. Lett*; 127, p: 19-28.
- ۱۱- سید علی مرتضوی . علیرضا صادقی ماهونک - میکروبیولوژی غذایی - ۱۳۸۱.
- 12-Salem R, El-Kaseh R, El-Diasty E. A study on the fungal contamination and prevalence of aflatoxins and some antibiotic residues in table eggs. *Arab Journal of Biotechnology*. 2009;12(1):65-71.
- 13-FAO.Aflatoxin contamination in foods and feeds in the philippines. *FAO/WHO Regional Conference on Food Safety for Asia and Pacific*; Seremban, Malaysia2004. p. 24-7.
- 14-Nakajima M, Tabatas, Akiyma H.2004; Occurrence of aflatoxin M1 in domestic milk in Japan during the Winter season, *Food Addit Contam*, 21 (5): 472-8 12
- 15-Bhatnagar, D., Ehrlich, K.C., and Cleveland, T.E. Oxidation reduction reaction in biosynthesis of secondary metabolites. In: *Handbook of Applied Mycology: Vol.5. Mycotoxins in Ecological Systems.*(Bhatnagar, D., Arora, D.K., Eds.,) Marcel Dekker. NewYork. (1992) pp. 255-286.
- 16- Pitt JI and Hocking AD (1997) *Fungi and food spoilage*. Blackie Academic.
- 17-Deshpande SS. *Handbook of Food Toxicology*. New York: Mercel Dekker; 2002: 390-411.
- 18-Hwang J. H., Lee K. G.; 2006; Reduction of aflatoxin B₁ contamination in wheat by various cookingtreatments; *food chem.*; 98(1), p: 71-5.
- 19-Kabak B., Dobson A. D., Var 1.; 2006; strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review; *crit Rev food sci Nutr*; 46(8), p: 593-619.
- 20-Gelli D. S., Jakabi M., Souza A.; 2002; Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases and outbreaks in Brazil (1982-2001). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*; 44(6), p: 321-4.
- 21-Ellis, J. A., Harvey, R. B., Kubena, L. F.; 1995; Reduction of aflatioxn M₁ residues in milk utilizing hydrated sodiumcalcium alumino-silicate (abs); *Toxicologist*; 10, p: 163.

۲۲- علامه ع.، رزاقی م. ۱۳۸۰، میکوتوکسین‌ها، تهران، موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه امام حسین.

- 23- ISIRI (Institu of standards and industrial research of Iran); 2002; food and feed- mycotoxin- maximurn tolerated level. 1st /Edition. Number 5925: 6.
- 25-Baydar T., Engin A. B., Girgin G., Aydin S. and Sahin G.; 2005; Aflatoxin and ochratoxin in various of commonly consumed retail ground samples in Ankara, Turkey; Agriculture Environment Medical; 12, p: 193-197.
- 26- Aydin, A., Erkan, E. M., Baskaya, R., & Ciftcioglu, G. (2007). Determination of aflatoxin B1 levels in powdered red pepper. Food Control, 18, 1015–1019.

27- Cristina T., Ciprain S., Alina N.; 2010; Incidence of Aspergillus strains and of Aflatoxin B₁ in cereals in south-western Romania; Research journal of Agricultural science; 42(2), p: 322-327.

28-Giray, B., Girgin, G., Engin, A. B., Aydin, S. and Sahim, G.; 2007; Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey; food control; 18(1), p: 23-29.

29- Ayalew A., Fehrmann H., Lepschy j., Beck R. and Abate D.; 2006; Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiophia; mycopathologia; 161, p: 57-63.

30-Toteja G. S., Mukherjee A., Diwakar S., et al; (2006); Aflatoxin B₁ contamination in wheat grain samples collected from different geographical regions of India: A multicenter study; Journal food protection; 69(6), 1463-1467.

31-Escobar A., Ragueiro O. S; 2002; Determination of aflatoxin B₁ in food stuffs in cuba (1990 through 1996) using an immunoenzymatic reagent kit (Aflacen); J food prot; 65(1), p: 219-21.

۳۲-- هدایتی م. ت؛ محمدپور ع.ر. ۱۳۸۴، میزان آلودگی نمونه‌های گندم انبارهای استان مازندران به آسپرژیلوس فلاووس و

آفلاتوکسین، فصلنامه علمی پژوهشی بهبود؛ دوره ۹، بهار، شماره ۲۴، صفحات ۶۱-۵۲.

33-Abdullah N., Nawawi A., Othman I.; 1998; survey of fungal counts and natural occurrence of aflatoxins in malaysina starch-based foods; mycopathologia; 143(1), p:53-8.

34- Villa P.; 2009; Aflatoxin B₁ and ochratoxin A in Breakfast cereals from Athens marker: occurrence and Risk Assessment; food control; 20, p: 455-467.

۳۵- خانه‌زاد یزدی ف. ۱۳۸۷، شناسایی و ردیابی ژن afIR در آسپرژیلوس‌های جدا شده از گندم در ایران به روش مولکولی و

بررسی قدرت تولید آفلاتوکسین در گونه‌های مذکور به روش Hplc، پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته

قارچ شناسی پزشکی.

36-Tam J.; (2006); Survey of breakfast and infant cereals for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂; food Addition contamination; 23(7), 693-699.

37-Yazdanpanah H., Miraglia M., Calfapietra F.R., Brera C.; 2007; Natural occurrence of mycotoxins in cereals from Mazandaran and Golestan provinces; Arc. Irn Med; 4(3), p: 107-114.

۳۸- کوهیان ک. ۱۳۹۰، بررسی میزان آفلاتوکسین B₁ و M₁ در تعدادی از مواد غذایی موجود در انبارهای مواد غذایی یگان های نراجا در تهران در سال ۱۳۹۰، فصلنامه پرستار و پزشک در رزم.

39-Thompson C., Henke S. E; 2000; Effect of climate and type of storage container on aflatoxin production and its associated risk to wildlife species; Journal of wildlife diseases; 36, p: 172-179.