



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

بررسی زهرابه‌های قارچی در آرد گندم تولیدی کارخانه‌های شهر اردبیل

مهدی داوری^{۱*}، حبیب‌اله اسکندری^۲، مهین پوراسمعیل^۱

۱- گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
۲- گروه شیمی کاربردی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله:

زمینه و هدف: زهرابه‌های قارچی (مایکوتوکسین‌ها) متابولیت‌های ثانویه سمی هستند که توسط قارچ‌ها تولید شده و محصولات غذایی مانند گندم را آلوده می‌کنند؛ در صورت مصرف این محصولات توسط انسان، خطرات سلامتی قابل توجهی را به همراه دارند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۹

تاریخ دریافت:

۱۴۰۴/۰۲/۱۷

تاریخ ویرایش:

۱۴۰۴/۰۲/۲۲

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۴/۰۹/۲۳

تاریخ انتشار:

روش بررسی: این مطالعه به منظور اندازه‌گیری هشت نوع زهرابه قارچی شامل داکسینیونول (DON)، زیرالنون (ZEN)، اکراتوکسین A (OTA)، آفلاتوکسین کل و آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 در آرد تولیدی کارخانه‌های شهر اردبیل انجام شد. برای این منظور، تعداد هشت نمونه شامل شش نمونه آرد نان لواش و دو نمونه آرد نان بربری از کارخانه‌های تولیدی آرد اردبیل جمع‌آوری و طی عمل‌آوری، به روش استخراج فاز جامد با استفاده از ستون‌های ایمینوآفینیتی تغلیظ و جداسازی مناسب بر روی آن صورت گرفت و در انتها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) همراه با آشکارسازی اسپکتروفلوریمتری (در مورد داکسی‌نیونول آشکارسازی فوق بنفش)، سنجش زهرابه‌های قارچی صورت گرفت.

واژگان کلیدی: ایمنی آرد گندم، آنالیز مواد غذایی، داکسی‌نیونول، آفلاتوکسین، مایکوتوکسین‌ها

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میزان داکسی‌نیونول در سه نمونه آرد لواش به ترتیب ۱۷۸/۷، ۱۳۶/۴ و ۱۸۸ ng/g و در بقیه نمونه‌های آرد لواش و بربری، کمتر از مقدار قابل تشخیص توسط دستگاه (۱۰۰ ng/g) بود. میزان سایر زهرابه‌های قارچی مورد سنجش نیز در تمام نمونه‌ها کمتر از حد تشخیص دستگاه برای هر کدام بود.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش، مشخص گردید میزان تمام هشت زهرابه قارچی مورد آزمون کمتر از حد مجاز آن‌ها در آرد گندم طبق استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران است. با وجود مسرتبخش بودن نتایج این مطالعه، پایش انواع آرد و سایر فرآورده‌های گندم در فصول دیگر سال به دلیل تامین گندم از مناطق مختلف کشور یا سایر کشورها توصیه می‌شود.

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
mdavari@uma.ac.ir

Please cite this article as: Davari M, Eskandari H, Poursmaeil M. Study of mycotoxins in wheat flour manufactured in Ardabil factories. Iranian Journal of Health and Environment. 2025;18(3):391-404.

مقدمه

زهرابه‌های قارچی یا میکوتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات سمی نسبتاً مقاوم هستند که همراه با سایر متابولیت‌های ثانویه نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها و آلکالوئیدها توسط قارچ‌های رشت‌های تولید می‌شوند و از طریق آلودگی محصولات غذایی می‌توانند باعث بیماری و مرگ در انسان و سایر حیوانات شوند (۱، ۲). تاکنون بیش از ۴۰۰ نوع زهرابه قارچی که توسط بیش از ۱۰۰ گونه قارچی تولید می‌شود، شناسایی شده است. اکثر زهرابه‌های قارچی تهدید کننده سلامتی انسان، توسط قارچ‌های جنس *Fusarium* و *Alternaria*، *Aspergillus*، *Penicillium* تولید می‌شوند (۳). زهرابه‌های قارچی یکی از مهم‌ترین عوامل در از دست دادن مواد غذایی به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه هستند و به چالشی مکرر برای ایمنی مواد غذایی تبدیل شده‌اند. در نتیجه تا به امروز، نگرانی‌های جدی هم از سوی مصرف‌کنندگان و هم از سوی متخصصان سلامت و تغذیه در مورد وجود میکوتوکسین‌ها در غذا مطرح شده است. آلودگی مواد غذایی توسط قارچ‌ها و زهرابه‌های قارچی منجر به از دست رفتن ماده خشک، کیفیت و تغذیه می‌شود و خطر قابل توجهی برای زنجیره غذایی ایجاد می‌کند. علاوه بر این، آلودگی به زهرابه‌های قارچی باعث کاهش کیفیت محصول و کاهش ارزش صادرات می‌شود که می‌تواند زیان اقتصادی قابل توجهی به کشورهای تولید کننده وارد کند. بنابراین زهرابه‌های قارچی مستقیماً در دسترس بودن غذا را کاهش می‌دهد و سهم به خصوصی در گرسنگی و سوء تغذیه دارند (۴). زهرابه‌های قارچی ممکن است از طریق آلودگی مستقیم، ناشی از رشد کپک روی غذا، یا با آلودگی غیرمستقیم از طریق استفاده از ترکیبات آلوده در غذاهای فرآوری شده وارد مواد غذایی شوند (۵). بر اساس گزارش سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)، سالانه ۲۵ درصد از محصولات کشاورزی جهان با زهرابه‌های قارچی آلوده شده و منجر به خسارات اقتصادی می‌شوند (۶). مصرف غذای آلوده به زهرابه‌های قارچی با در نظر گرفتن اثرات حاد سرطان‌زا، سرکوب کننده سیستم ایمنی،

استروژن و هدف اندام این سموم، خطرات سلامتی قابل توجهی در انسان ایجاد می‌کند. آفلاتوکسین (AF)، اکراتوکسین‌ها از جمله اکراتوکسین A (OTA)، فومونیزین‌ها، تریکوتسن‌ها، پاتولین (PAT)، سیتترین (CIT) و زیرانون زهرابه‌های قارچی مهم تجاری هستند که در تحقیقات شناسایی شده‌اند (۵).

آلودگی محصولات غذایی به زهرابه‌های قارچی نه تنها بهداشت غذایی و سلامت گروه‌های مصرف کننده را تهدید می‌کند، بلکه می‌تواند در بخش صادرات و واردات محصولات مختلف بین کشورها و حتی ارتباطات دیگر آنها نیز اثرات نامطلوب گذاشته و اقتصاد آنها را مورد تهدید قرار دهد. با این حال با اختیار قوانین مدون و تعیین استانداردهای مجاز آلودگی محصولات مختلف کشاورزی و فرآورده‌های آنها توسط مراکز بین‌المللی از جمله سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) و سازمان جهانی بهداشت (WHO)، تا حدودی از مشکلات این بخش کاسته و باعث تعامل بیشتر میان کشورهای صادر کننده و وارد کننده محصولات شده است.

مطالعات نشان داده است که بین زهرابه‌های قارچی تولید شده توسط گونه‌های فوزاریوم و وقوع برخی سرطان‌های دستگاه گوارش از جمله سرطان‌های مری و معده ارتباط تنگاتنگی وجود دارد (۷-۹). با توجه به این که استان اردبیل از جمله مناطق مهم دنیا محسوب می‌شود که میزان بالایی از شیوع سرطان مری را نشان می‌دهند، پایش سلامت مواد غذایی در این منطقه اولویت بالایی دارد. علاوه بر پایش و غربال‌گری مناسب محصولات غذایی از جمله آرد گندم (از لحاظ آلودگی به زهرابه‌های قارچی و مطابقت میزان آنها با بیشینه حدمجاز آنها)، مطالعه و بررسی جهت برطرف نمودن سایر عوامل دخیل در این نوع سرطان و در نهایت برنامه‌ریزی مناسب برای کاهش این آلودگی‌ها، ضروری به نظر می‌رسد. گندم دومین محصول بزرگ جهان است که ۱۹ درصد کالری انسان را تامین می‌کند و بزرگترین محصول تجارت بین‌المللی است (۱۰). میانگین تولید سالانه جهانی گندم

این آلودگی‌ها برای سلامت مصرف‌کنندگان ایجاد می‌کند و همچنین ارائه راهکارهای عملی برای کاهش این آلودگی‌ها و رعایت استانداردهای ایمنی غذایی انجام شده است. نتایج این پژوهش می‌تواند به عنوان مبنایی برای تصمیم‌گیری در مورد تدوین سیاست‌های بهداشتی و ایمنی غذایی در سطح ملی و محلی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، این نتایج می‌تواند برای بهبود فرآیندهای تولید آرد گندم در کارخانه‌های اردبیل و سایر مناطق کشور مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده‌سازی نمونه‌های آرد

بدین منظور، تعداد هشت نمونه آرد گندم شامل شش نمونه آرد نان لواش و دو نمونه آرد نان بربری از شش کارخانه شهر اردبیل در تیرماه سال ۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. نمونه‌های یک کیلوگرمی داخل پاکت‌های کاغذی تمیز قرار گرفته و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال گردید.

استخراج زهرابه‌های قارچی

به منظور اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها هنگام آنالیز نمونه‌های آرد از استاندارد شماره ۶۸۷۲ سازمان ملی استاندارد ایران (خوراک انسان و دام- اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌های گروه B و G به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی، روش آزمون) بهره گرفته شد و به صورت خلاصه چنین عمل شد که ۵۰ g از نمونه آرد الک شده (الک با منافذ کوچکتر از ۲ mm استفاده شد) همراه با ۵ g سدیم کلرید تحت استخراج با ۲۰۰ mL محلول استخراجگر (به نسبت ۸ حجم متانول به ۲ حجم آب) قرار گرفت. پس از آن با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ μm مناسب، عصاره از بافت جامد جداسازی شد. سپس ۲۰ mL از این عصاره با ۱۳۰ mL از آب یونزدایی شده مناسب، مخلوط شده و دوباره صاف شد (به کمک کاغذ صافی). از سوی دیگر، ستون ایمونوآفینیتی حاوی آنتی‌بادی‌های آفلاتوکسین‌های گروه B و G با عبور دادن ۱۰ mL از محلول بافر فسفات سالیین آماده

در دوره ۵ ساله ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۰، ۷۵۰ میلیون تن گزارش شده است. کشور چین با ۱۷/۶ درصد از کل تولید گندم جهان در سال ۲۰۲۰، پیشروترین تولیدکننده گندم است. تخمین زده می‌شود که تولید گندم تا سال ۲۰۳۰ به ۸۴۰ میلیون تن افزایش یابد تا نیازهای غذایی آینده را برآورده کند (۱۱). آرد گندم از آسیاب دانه گندم تولید می‌شود و انرژی مورد نیاز روزانه مردم را در سراسر جهان در قالب محصولات مختلف تامین می‌کند (۱۲). بخشی از آلودگی آرد به زهرابه‌های قارچی مربوط به وقوع بیماری سوختگی فوزاریومی سنبله گندم ناشی از برخی گونه‌های فوزاریوم از جمله *F. culmorum* و *F. graminearum* در مزرعه است که علاوه بر کاهش عملکرد، آلودگی گندم و آرد به زهرابه‌های قارچی مانند داکسی‌نیوالنول و زیرالنون را سبب می‌شود. رشد کپک و در نتیجه آن، تولید زهرابه قارچی ممکن است در نتیجه شرایط انبارداری نامناسب و حین تولید و نگهداری آرد هم ایجاد شود که می‌توان به تولید زهرابه‌های قارچی آفلاتوکسین و اکراتوکسین ناشی از برخی گونه‌های جنس قارچی *Aspergillus* اشاره کرد (۱۳، ۱۴). بیشینه حد مجاز زهرابه قارچی در گندم و فرآورده‌های آن (از جمله آرد) بر حسب نانوگرم بر گرم طبق استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران، برای زهرابه‌های قارچی داکسی‌نیوالنول، زیرالنون، آفلاتوکسین کل و اکراتوکسین A به ترتیب ۱۰۰۰، ۲۰۰، ۱۵ و ۵ است.

به دلیل اهمیت بالای آرد و فرآورده‌های آن در رژیم غذایی انسان تاکنون پژوهش‌های مختلفی در خصوص ارزیابی سطوح زهرابه‌های قارچی در آرد گندم و تعیین منابع احتمالی آلودگی در ایران و جهان انجام گرفته است، اما تاکنون مطالعه منسجمی در خصوص سنجش میزان زهرابه‌های قارچی احتمالی موجود در آرد گندم اردبیل انجام نشده است. هدف اصلی این پژوهش، بررسی دقیق میزان آلودگی آرد گندم تولید شده در کارخانه‌های اردبیل به زهرابه‌های قارچی است. این مطالعه با هدف روشن کردن خطرات بالقوه‌ای که

اکراتوکسین A از ستون به کمک $1500 \mu\text{L}$ محلول متانول به استیک اسید با نسبت حجمی ۹۸ به ۲ از ستون صورت گرفت و کل فاز متانولی جمع‌آوری شد. فاز متانولی به دست آمده، با $1500 \mu\text{L}$ آب یون‌زدائی شده مناسب، رقیق‌سازی و نگهداری شد. این محلول برای جداسازی اکراتوکسین A و سنجش آن، به داخل سیستم کروماتوگرافی مایع با آشکارساز فلورسانس تزریق شد.

به منظور اندازه‌گیری داکسی‌نیوالنول هنگام آنالیز نمونه های آرد از استاندارد شماره ۹۲۴۰ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات - تعیین مقدار داکسی‌نیوالنول - تخلیص به وسیله ستون ایمونوآفینیتی به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا - روش آزمون) بهره گرفته شد و به صورت خلاصه چنین عمل شد که 25 g از نمونه آرد تحت استخراج با 200 mL آب به مدت 2 min قرار گرفت. پس از آن به ترتیب کاغذ صافی واتمن مناسب و کاغذ صافی حاوی الیاف شیشه ای مناسب استفاده شدند تا عصاره از بافت جامد جداسازی شد. از سوی دیگر، ستون ایمونوآفینیتی حاوی آنتی‌بادی داکسی‌نیوالنول با عبور دادن 10 mL از محلول بافر فسفات سالین با سرعت عبور 2 mL آماده شد. 100 mL از عصاره صاف شده، با سرعت جریان یک قطره در ثانیه از ستون ایمونوآفینیتی آماده شده، عبور داده شد تا داکسی‌نیوالنول جذب ستون شده و تغلیظ شود. جداسازی ترکیبات ناخواسته از ستون به کمک 5 mL آب یون‌زدائی شده مناسب انجام شد و سپس با دمش هوا از میان ستون، ستون به طور کامل عاری از هر مایعی شد. بعد از آن، شویش داکسی‌نیوالنول از ستون به کمک $1500 \mu\text{L}$ متانول از ستون صورت گرفت و کل فاز متانولی جمع‌آوری شد. در دمای 40°C ، حلال متانول پرانده شد و محتوای خشک شده در $1000 \mu\text{L}$ از فاز متحرک HPLC حل شد. این محلول برای جداسازی داکسی‌نیوالنول و سنجش آن، به داخل سیستم کروماتوگرافی مایع با آشکارساز فلورسانس تزریق شد.

جهت اندازه‌گیری زیرالنون هنگام آنالیز نمونه‌های آرد از

شد. 70 mL از عصاره صاف شده، با سرعت جریان 2 تا 3 mL/min از ستون ایمونوآفینیتی آماده شده، عبور داده شد تا آفلاتوکسین‌ها جذب ستون شده و تغلیظ شوند. جداسازی ترکیبات ناخواسته از ستون به کمک 10 mL آب یون‌زدائی شده مناسب، انجام شد و سپس با دمش هوا از میان ستون، ستون به طور کامل عاری از هر مایعی شد. بعد از آن، شویش آفلاتوکسین‌ها از ستون به کمک $1500 \mu\text{L}$ متانول از ستون صورت گرفت و کل فاز متانولی جمع‌آوری شد. فاز متانولی به دست آمده، با $1500 \mu\text{L}$ آب یون‌زدائی شده مناسب، رقیق‌سازی و نگهداری شد. این محلول برای جداسازی انواع آفلاتوکسین‌ها و سنجش آنها، به داخل سیستم کروماتوگرافی مایع با آشکارساز فلورسانس تزریق شد. به‌منظور اندازه‌گیری اکراتوکسین A هنگام آنالیز نمونه‌های آرد از استاندارد شماره ۹۲۳۸ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری اوکراتوکسین A به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی، روش آزمون) بهره گرفته شد و به صورت خلاصه چنین عمل شد که 25 g از نمونه آرد و 1 g سدیم کلرید پس از مخلوط شدن و خرد شدن، تحت استخراج به مدت 3 min با 100 mL محلول استخراجگر (به نسبت $8/4$ حجم استونیتریل به $1/6$ حجم آب) قرار گرفت. پس از آن با استفاده از کاغذ صافی مناسب، عصاره از بافت جامد جداسازی شد. سپس 10 mL از این عصاره با 50 mL از بافر فسفات سالین مخلوط شده و دوباره صاف شد (به کمک کاغذ صافی با الیاف شیشه‌ای). از سوی دیگر، ستون ایمونوآفینیتی حاوی آنتی‌بادی اکراتوکسین A با عبور دادن 10 mL از محلول بافر فسفات سالین آماده شد. 55 mL از عصاره صاف شده، با سرعت جریان 2 تا 3 mL/min از ستون ایمونوآفینیتی آماده شده، عبور داده شد تا اکراتوکسین A جذب ستون شده و تغلیظ شود. جداسازی ترکیبات ناخواسته از ستون به کمک 10 mL بافر فسفات سالین انجام شد و سپس با دمش هوا از میان ستون، ستون به طور کامل عاری از هر مایعی شد. بعد از آن، شویش

آزمون).
 ۲. اکراتوکسین A: استاندارد شماره ۹۲۳۸ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری اکراتوکسین A به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی، روش آزمون).
 ۳. زیرالنون: استاندارد شماره ۹۲۳۹ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری ZEN به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی، روش آزمون).
 ۴. داکسی‌نیوالنول: استاندارد شماره ۹۲۴۰ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات - تعیین مقدار داکسی‌نیوالنول - تخلیص به وسیله ستون ایمونوآفینیتی به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا- روش آزمون) و استاندارد شماره ۱۰۲۱۵ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری داکسی‌نیوالنول به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون فاز جامد، روش آزمون).
 منحنی‌های کالیبراسیون و آنالیز عصاره‌های نهائی نمونه‌های آرد از استانداردهای شماره ۶۸۷۲، ۹۲۳۸، ۹۲۴۰ و ۹۲۳۹ سازمان ملی استاندارد ایران جهت آنالیز آفلاتوکسین‌ها و دیگر زهرابه‌های قارچی استفاده شد. همچنین به منظور آنالیز زهرابه‌های قارچی از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارسازهای فلورسانس و فوق بنفش استفاده شد (Agilent ساخت کشور آمریکا، مدل ۱۱۰۰). نمودارهای کالیبراسیون، با ترسیم پاسخ سیستم (مساحت زیر هر پیک) در مقابل غلظت تزریق شده برای هر یک از زهرابه‌های قارچی تهیه شدند. توان دوم ضریب رگرسیون برای هیچ یک از منحنی‌های کالیبراسیون، کوچکتر از ۰/۹۹۹ نبودند. از سوی دیگر با توجه به محتوای استانداردهای قید شده با شماره‌های ۶۸۷۲، ۹۲۳۸، ۹۲۴۰ و ۹۲۳۹، مقادیر حد تعیین و حد تشخیص زهرابه‌های قارچی مورد نظر، به این صورت می‌باشند: حد تعیین (LOQ) برای آفلاتوکسین‌های B_1 و G_1 ، 1 ng/g ، برای آفلاتوکسین‌های

استاندارد شماره ۹۲۳۹ سازمان ملی استاندارد ایران (غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری ZEN به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی، روش آزمون) بهره گرفته شد و به صورت خلاصه چنین عمل شد که ۲۵ g از نمونه آرد و ۱ g سدیم کلرید پس از مخلوط شدن و خرد شدن، تحت استخراج به مدت ۳ min با ۱۰۰ mL محلول استخراجگر (به نسبت ۸/۴ حجم استونیتریل به ۱/۶ حجم آب) قرار گرفت. پس از آن با استفاده از کاغذ صافی مناسب، عصاره از بافت جامد جداسازی شد. سپس ۱۰ mL از این عصاره با ۶۵ mL آب یون‌زدائی شده، مخلوط شده و دوباره صاف شد (به کمک کاغذ صافی با الیاف شیشه‌ای). از سوی دیگر، ستون ایمونوآفینیتی حاوی آنتی‌بادی زیرالنون با عبور دادن ۱۰ mL از محلول بافر فسفات سالین آماده شد. ۶۵ mL از عصاره صاف شده، با سرعت جریان ۲ تا ۳ mL/min از ستون ایمونوآفینیتی آماده شده، عبور داده شد تا زیرالنون جذب ستون شده و تغلیظ شود. جداسازی ترکیبات ناخواسته از ستون به کمک ۱۰ mL بافر فسفات سالین انجام شد و سپس با دمش هوا از میان ستون، ستون به طور کامل عاری از هر مایعی شد. بعد از آن، شویش زیرالنون از ستون به کمک $2000 \mu\text{L}$ متانول صورت گرفت و کل فاز متانولی جمع‌آوری شد. فاز متانولی به دست آمده، با $2000 \mu\text{L}$ آب یون‌زدائی شده مناسب، رقیق‌سازی و نگهداری شد. این محلول برای جداسازی زیرالنون و سنجش آن، به داخل سیستم کروماتوگرافی مایع با آشکارساز فلورسانس تزریق شد.

آزمون آنالیز زهرابه‌های قارچی

مواد مورد نیاز برای آنالیز زهرابه‌های قارچی از جمله محلول‌ها و حلال‌های استاندارد مطابق استانداردهای زیر تهیه شدند:
 ۱. آفلاتوکسین‌های گروه B و G: استاندارد شماره ۶۸۷۲ سازمان ملی استاندارد ایران (خوراک انسان و دام- اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌های گروه B و G به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی، روش

کالیبراسیون، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ و ۱/۰ ng/mL بود و شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب ۱۵/۴۶۲ و ۰/۰۵۳۸ و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون ۰/۹۹۹۱ بود. برای آفلاتوکسین G_2 غلظت‌های استفاده شده در کالیبراسیون، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱/۰ ng/mL، شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب ۹/۱۰۲ و ۰/۰۹۵۹- و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون ۰/۹۹۹۴ بود. هنگام محاسبه مقادیر آفلاتوکسین‌ها در نمونه‌های آرد، فاکتورهای رقیق‌سازی، سطوح زیر پیک‌های کروماتوگرافی و معادله کالیبراسیون هر یک از آفلاتوکسین‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

جهت آنالیز اکرآتوکسین A از دستگاه HPLC با آشکارساز فلورسانس (طول موج تهییج ۳۳۳ nm و طول موج نشر ۴۷۷ nm) مجهز به سل جاری دارای ستون از نوع C_{18} به طول ۲۵۰ mm و قطر داخلی ۴/۶ mm پر شده با ذرات ۵ μ m استفاده شد. فاز متحرک مخلوط آب-استونیتریل-استیک اسید (به صورت ایزوکراتیک) با نسبت حجمی ۹۹ به ۹۹ به ۲ با سرعت جریان ۲/۰ mL/min مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ μ L از محلول‌های استاندارد و عصاره‌های به دست آمده حاوی اکرآتوکسین A جهت تزریق به داخل ستون کروماتوگرافی مورد استفاده قرار گرفت و سطح زیر پیک به عنوان پاسخ تجزیه‌ای ملاک عمل قرار گرفت. محلول مادر اکرآتوکسین A به صورت ۱۰۰۰ ng از آن در ۱ mL حلال بود. محلول ۲۰ ng/mL آن با برداشتن حجم مناسب از محلول مادر، خشک کردن آن در دمای ۵۰ °C توام با اعمال جریان هوا و سپس افزودن حجم مناسب از فاز متحرک کروماتوگرافی تهیه شد. محلول‌های نهائی (با غلظت مناسب) جهت تزریق به داخل سیستم کروماتوگرافی، از این محلول ۲۰ ng/mL طی فرایند رقیق‌سازی با فاز متحرک تهیه شده، آماده شدند. ذکر این نکته لازم است که منحنی کالیبراسیون به دست آمده برای اکرآتوکسین A در

G_2 و B_2 ، ۰/۲ ng/g، برای اکرآتوکسین A، ۱ ng/g، برای داکسی‌نیوالنول، ۳۵۰ ng/mL و برای زیرالنون، ۳۰ ng/g است. همچنین حد تشخیص (LOD) برای داکسی‌نیوالنول، ۱۰۰ ng/mL است.

به منظور آنالیز آفلاتوکسین‌ها از دستگاه HPLC با آشکارساز فلورسانس (طول موج تهییج ۳۶۵ nm و طول موج نشر ۴۳۵ nm) مجهز به سل جاری دارای ستون از نوع C_{18} به طول ۲۵۰ mm و قطر داخلی ۴/۶ mm پر شده با ذرات ۵ μ m استفاده شد. فاز متحرک مخلوط آب-استونیتریل-متانول (به صورت ایزوکراتیک) با نسبت حجمی ۶ به ۲ به ۳ با سرعت جریان ۱/۰ mL/min مورد استفاده قرار گرفت. ۱۰۰ μ L از محلول‌های استاندارد و عصاره‌های به دست آمده حاوی آفلاتوکسین‌ها جهت تزریق به داخل ستون کروماتوگرافی مورد استفاده قرار گرفت و سطح زیر پیک‌ها به عنوان پاسخ تجزیه‌ای ملاک عمل قرار گرفتند. محلول مادر مخلوط آفلاتوکسین‌ها در متانول به صورت ۱۰۰۰ ng از B_1 و G_1 و ۲۰۰ ng از B_2 و G_2 در ۱ mL متانول بود. تهیه محلول‌های نهائی با غلظت مناسب جهت تزریق در سیستم HPLC، در مخلوط حلال‌های آب و متانول با نسبت ۲ حجم متانول در مقابل ۳ حجم آب بوده است. ذکر این نکته لازم است که منحنی‌های کالیبراسیون به دست آمده برای B_1 و G_1 در محدوده غلظتی ۰/۵-۵/۰ ng/mL و برای B_2 و G_2 در محدوده غلظتی ۰/۱-۱/۰ ng/mL بودند. برای آفلاتوکسین B_1 غلظت‌های استفاده شده در کالیبراسیون، ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰ و ۵/۰ ng/mL بود. شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب ۷/۶۹۰۳ و ۰/۲۰۸۲ و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون ۰/۹۹۹۶ بود. برای آفلاتوکسین G_1 غلظت‌های استفاده شده در کالیبراسیون، ۰/۵، ۱/۰، ۲/۰ و ۵/۰ ng/mL، شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب ۶/۶۶۰۵ و ۰/۴۹۶۴ و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون ۰/۹۹۹۰ بود. برای آفلاتوکسین B_2 غلظت‌های استفاده شده در

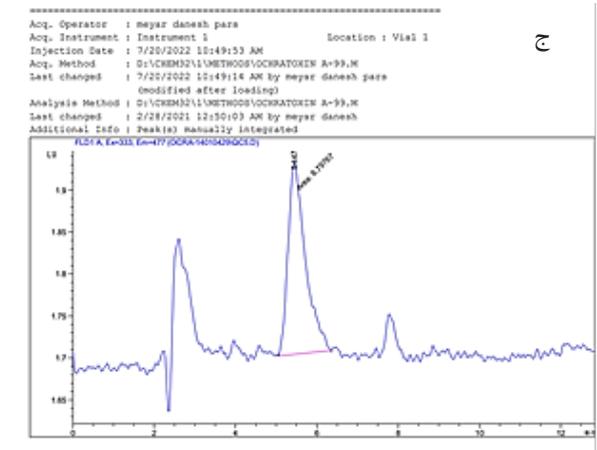
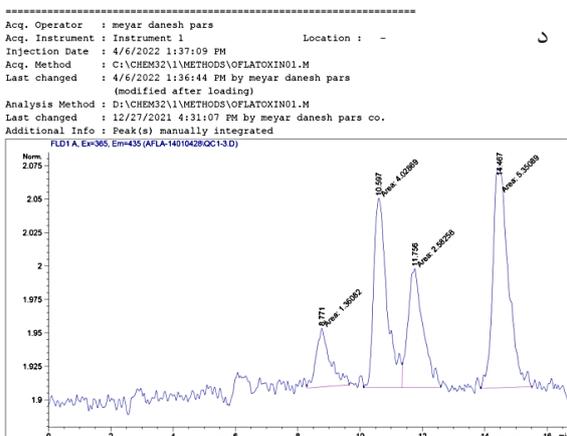
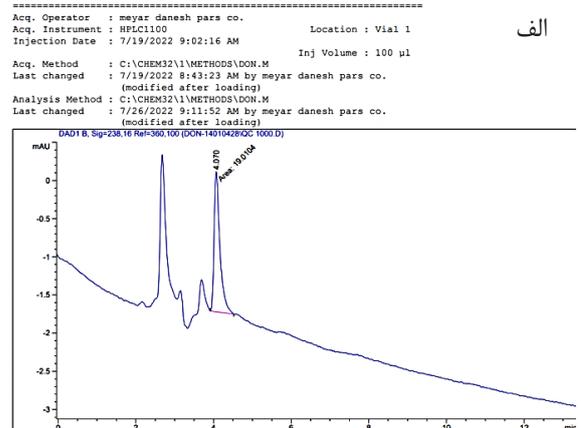
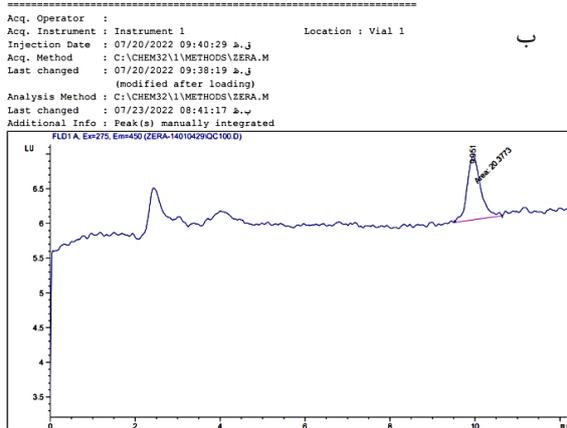
محدوده غلظتی $1/0-10/0$ ng/mL بود. برای اکرآتوکسین A غلظت‌های استفاده شده در کالیبراسیون، $1/0$ ، $2/0$ ، $5/0$ و $10/0$ ng/mL، شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب $1/3316$ و $0/3827$ و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون $0/9996$ بود. هنگام محاسبه مقادیر اکرآتوکسین A در نمونه‌های آرد، فاکتورهای رقیق‌سازی، سطوح زیر پیک‌های کروماتوگرافی و معادله کالیبراسیون اکرآتوکسین A مورد استفاده قرار گرفتند.

به منظور آنالیز داکسی‌نیوالنول از دستگاه HPLC با آشکارساز فوق بنفش (طول موج 218 nm) مجهز به سل جاری دارای ستون از نوع C_{18} به طول 250 mm و قطر داخلی $4/6$ mm پر شده با ذرات 5 μ m استفاده شد. فاز متحرک مخلوط آب-استونیتریل (به صورت ایزوکراتیک) با نسبت حجمی 90 به 10 مورد استفاده قرار گرفت. 200 μ L از محلول‌های استاندارد و عصاره‌های به دست آمده حاوی داکسی‌نیوالنول جهت تزریق به داخل ستون کروماتوگرافی مورد استفاده قرار گرفتند. غلظت‌های استفاده شده در کالیبراسیون، 100 ، 50 ، 20 و 100 ng/mL، شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب $0/213$ و $-0/2987$ و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون $0/9991$ بود. هنگام محاسبه مقادیر زیرالنون در نمونه‌های آرد، فاکتورهای رقیق‌سازی، سطوح زیر پیک‌های کروماتوگرافی و معادله کالیبراسیون زیرالنون مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها

کروماتوگرام استاندارد زهرابه‌های قارچی شکل ۱ کروماتوگرام استاندارد داکسی‌نیوالنول با غلظت 1000 μ g/L، زیرالنون با غلظت 100 μ g/L، اکرآتوکسین با غلظت 5 μ g/L (ppb) و آفلاتوکسین‌ها با غلظت 1 μ g/L (ppb) را نشان می‌دهد. مدت زمان بازداری داکسی‌نیوالنول، زیرالنون و اکرآتوکسین به ترتیب $4/070$ ، $9/951$ و $5/447$ min می‌باشند. در خصوص انواع آفلاتوکسین‌ها نیز زمان‌های بازداری آن‌ها در شکل ۱-د آورده شده است.

به منظور آنالیز داکسی‌نیوالنول از دستگاه HPLC با آشکارساز فوق بنفش (طول موج 218 nm) مجهز به سل جاری دارای ستون از نوع C_{18} به طول 250 mm و قطر داخلی $4/6$ mm پر شده با ذرات 5 μ m استفاده شد. فاز متحرک مخلوط آب-استونیتریل (به صورت ایزوکراتیک) با نسبت حجمی 90 به 10 مورد استفاده قرار گرفت. 200 μ L از محلول‌های استاندارد و عصاره‌های به دست آمده حاوی داکسی‌نیوالنول جهت تزریق به داخل ستون کروماتوگرافی مورد استفاده قرار گرفتند و پس از عمل تجزیه‌ای ملاک عمل قرار گرفت. از محلول مادر داکسی‌نیوالنول، حجم‌های مناسب برداشته شد و پس از عمل آوری مناسب، فاز متحرک کروماتوگرافی برای تهیه محلول‌های نهایی به کار گرفته شد. ذکر این نکته لازم است که منحنی کالیبراسیون به دست آمده برای داکسی‌نیوالنول در محدوده غلظتی $100-1000$ ng/mL بود. برای داکسی‌نیوالنول، غلظت‌های استفاده شده در کالیبراسیون، 100 ، 200 ، 500 و 1000 ng/mL، شیب و عرض از مبدا منحنی کالیبراسیون به دست آمده به ترتیب $0/223$ و $-1/4561$ و توان دوم ضریب رگرسیون این منحنی کالیبراسیون $0/9995$ بود. هنگام محاسبه مقادیر داکسی‌نیوالنول در نمونه‌های آرد، فاکتورهای رقیق‌سازی، سطوح زیر پیک‌های کروماتوگرافی و معادله کالیبراسیون داکسی‌نیوالنول مورد استفاده قرار گرفتند. جهت آنالیز زیرالنون از دستگاه HPLC با آشکارساز فلورسانس (طول موج تهییج 275 nm و طول موج نشر



شکل ۱- کروماتوگرام‌های استاندارد الف) داکسی‌نیوالنول با غلظت ۱۰۰۰ µg/L (ب) زیرالنون با غلظت ۱۰۰ µg/L (ج) اکرآتوکسین با غلظت ۵ µg/L (د) استاندارد آفلاتوکسین‌ها با غلظت ۱ µg/L

میزان آلودگی نمونه‌های آرد به زیرالنون: طبق نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری زهرا به قارچی زیرالنون در پژوهش حاضر، مقدار آن در تمام نمونه‌ها کمتر از مقداری بود که توسط دستگاه قابل اندازه‌گیری (۳۷ ng/g) باشد و بنابراین زهرا به قارچی ZEN در تمام نمونه‌های آرد اردبیل که مورد آزمون قرار گرفتند، کمتر از بیشینه حد مجاز این زهرا به قارچی در آرد (کمتر از ۲۰۰ ng/g) طبق استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران بود (جدول ۲).

زهرا به قارچی اکرآتوکسین A زهرا به قارچی دیگری بود که در این پژوهش با استفاده از دستگاه HPLC مورد سنجش قرار

میزان آلودگی نمونه‌های آرد به میکوتوکسین‌ها
 میزان آلودگی نمونه‌های آرد به داکسی‌نیوالنول: همان‌طوری‌که در جدول ۱ دیده می‌شود، میزان داکسی‌نیوالنول در سه نمونه آرد لواش به ترتیب ۱۷۸/۷، ۱۳۶/۴ و ۱۸۸ ng/g و در بقیه نمونه‌های آرد لواش و بربری کمتر از مقدار قابل تشخیص توسط دستگاه (۱۰۰ ng/g) بود. بدین ترتیب زهرا به قارچی DON در تمام نمونه‌های مورد آزمون کمتر از بیشینه حد مجاز این زهرا به قارچی در آرد (کمتر از ۱۰۰۰ µg/kg=ng/g) طبق استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران بود (جدول ۲).

گرفت. طبق نتایج، مقدار این زهرابه قارچی در تمام نمونه‌ها کمتر از حد تشخیص دستگاه (۱ ng/g) بود و بنابراین از بیشینه حد مجاز آن (کمتر از ۵ ng/g) طبق استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران پایین‌تر بود.

جدول ۱- نتایج حاصل از آلودگی انواع زهرابه‌های قارچی در نمونه‌های آرد

شماره نمونه	نوع آرد	مقدار DON (µg/Kg)	مقدار ZEN (ng/g)	مقدار Ochratoxin (ng/g)	مقدار آفلاتوکسین کل (ng/g)	مقدار انواع آفلاتوکسین (ng/g)			
						G2	G1	B2	B1
1L	لواش	۱۷۸۷	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
2L	لواش	۱۳۶/۴	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
3L	لواش	۱۸۸	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
4L	لواش	<۱۰۰	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
5L	لواش	<۱۰۰	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
6L	لواش	<۱۰۰	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
7B	بربری	<۱۰۰	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
8B	بربری	<۱۰۰	<۳۷	<۱	<۱/۲	<۰/۱	<۰/۵	<۰/۱	<۰/۵
	گندم و آرد	<۱۰۰۰	<۲۰۰	<۵	<۱۵	-	-	-	<۵

جدول ۲- بیشینه حد مجاز زهرابه‌های قارچی در گندم و فرآورده‌های آن (از جمله آرد) بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم طبق استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران

انواع مایکوتوکسین‌ها								مواد غذایی
پاتولین	مجموع فومانیزین‌های B2 و B1	داکسی نیوالنول	زیرالنون	اکراتوکسین A	آفلاتوکسین			
					M1	Total (B1+B2+G1+G2)	B1	
INSO 7438	INSO 7613	INSO 10215, INSO 9240	INSO 9239	INSO 9238	INSO 7133	INSO 6872		
-	-	۱۰۰۰	۲۰۰	۵	-	۱۵	۵	گندم و فرآورده‌های آن
-	-	-	-	۵	-	۳۰	۵	غلات و برنج و فرآورده‌های آن
-	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۲۰۰	۵۰	-	۳۰	۵	فرآورده‌های ذرت و فرآورده‌های آن
-	-	۱۰۰۰	۲۰۰	۵۰	-	۳۰	۵	آن جو و فرآورده‌های آن
-	-	۱۰۰۰	۲۰۰	۵۰	-	۳۰	۵	سایر غلات و فرآورده‌های آن

بدین ترتیب تمام نمونه‌های آرد با سطح احتمال ۹۵ درصد با استاندارد ۵۹۲۵ مطابقت دارد. منظور از "<..." مقادیر کمتر از حد تعیین مقدار (LOQ) است. منظور از LOQ کمترین مقداری است که با اطمینان مشخص، دستگاه مورد استفاده قادر به اندازه‌گیری است. در واقع بهترین توان سیستم اندازه‌گیری است.

بحث

به دلیل اهمیت بالای آرد و فرآورده‌های آن در رژیم غذایی انسان تاکنون پژوهش‌های مختلفی در خصوص زهرابه‌های قارچی موجود در آرد در ایران و جهان انجام گرفته است (۱۵). ارزیابی میزان DON در نمونه‌های آرد لواش و بربری در برخی پژوهش‌ها نشان دهنده بالاتر بودن میزان زهرابه قارچی در آرد لواش است، در حالی که بعد از مراحل آماده‌سازی و پخت، میزان سم در نان بربری بیشتر از نان لواش بود (۱۶). در مراحل عمل‌آوری نان بربری از خمیرمایه استفاده و به مدت طولانی‌تری نسبت به نان لواش تخمیر انجام می‌شود. به همین دلیل میزان رها شدن ترکیبات استیل‌ه داکسی‌نیوالنول هم افزایش می‌یابد و این مسئله موجب افزایش جزئی میزان زهرابه قارچی در نان بربری نسبت به نان لواش می‌شود (۱۷). از طرفی داکسی‌نیوالنول در زمان پخت در دمای 120°C پایدار می‌ماند و در دمای 180°C تا حد زیادی از بین رفته و در دمای 210°C به مقدار خیلی کم باقی می‌ماند (۱۸). ممکن است میزان حرارت در پخت نان لواش بالاتر از پخت نان بربری باشد یا با توجه به نازک و مسطح بودن نان لواش نسبت به نان بربری حرارت بیشتر به عمق نان نفوذ کند و موجب از بین رفتن مقدار بیشتر زهرابه قارچی در نان لواش شود (۱۹).

در مطالعه‌ای برای بررسی قدرت تولید زهرابه قارچی داکسی‌نیوالنول در جدایه‌های (Isolates) متعلق به گونه مرکب *Fusarium graminearum* منطقه مغان با استفاده از روش TLC (کروماتوگرافی لایه نازک) و HPLC مشخص گردید که اغلب این جدایه‌ها قادر به تولید داکسی‌نیوالنول

می‌باشند ولی رابطه معنی‌داری بین قدرت تولید زهرابه قارچی و رقم گندم یا ناحیه پراکنش یا سال جداسازی جدایه‌ها در این پژوهش مشاهده نکردند. نتایج حاصل از تجزیه HPLC نیز نشان داد که بیشترین مقدار داکسی‌نیوالنول تولید شده، مربوط به جدایه *F. graminearum* جداسازی شده از رقم ایزن‌گرین مزارع کشت و صنعت مغان در سال ۲۰۰۴ با مقدار $5827/11 \mu\text{g}/\text{kg}$ و کمترین مقدار آن مربوط به جدایه‌ای از همین گونه مربوط به رقم آتیلا ۴ گندم جمع‌آوری شده از این مزارع در سال ۲۰۰۷ با مقدار $101/11 \mu\text{g}/\text{kg}$ است (۱۳). در مطالعه‌ای میزان داکسی‌نیوالنول در ارزیابی آرد خام و نان نانوائی‌های شهرستان محمودآباد، به ترتیب $0/03 \pm 0/04$ و $0/12 \pm 0/21 \mu\text{g}/\text{kg}$ و مقدار زهرابه قارچی موجود در آرد لواش و بربری به ترتیب $0/01 \pm 0/02$ و $0/01 \pm 0/01 \mu\text{g}/\text{kg}$ و کمتر از حد بیشینه استاندارد بود. سطح متوسط داکسی‌نیوالنول در نمونه‌های آرد و نان در سطح احتمال ۵ درصد نیز از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشت (۱۶).

Yazdanpanah و همکاران در سال ۲۰۱۴ میانگین آلودگی نمونه‌های غلات و فرآورده‌های آن به داکسی‌نیوالنول، $118/2 \text{ ng}/\text{g}$ گزارش کردند (۲۰). مطالعه صورت گرفته در خصوص گندم‌های وارداتی از کشورهای حوزه دریای خزر هم میانگین داکسی‌نیوالنول، $181/60 \text{ ng}/\text{g}$ و پایین‌تر از حدود مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران تشخیص داده شد (۲۱).

در مطالعه‌ای ۱۰ درصد از نمونه‌های آرد گندم استان آذربایجان شرقی بیشتر از حد مجاز حاوی سم زیرالنون و ۹۰ درصد از نمونه‌های آرد گندم کمتر از حد مجاز حاوی زیرالنون بودند. همچنین با بررسی مقدار زیرالنون در گندم‌های انباری استان مازندران مشخص گردید که $64/4$ درصد نمونه‌ها حاوی بیش از $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ زیرالنون هستند (۲۲) و در گندم‌های وارداتی از کشورهای حوزه دریای خزر، میانگین زیرالنون، $133/50 \text{ ng}/\text{g}$ بود که پایین‌تر از حدود مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران تشخیص داده شد (۲۱). مطالعه

به دلیل خطرات بالقوه بهداشتی مرتبط با آلودگی زهرابه‌های قارچی، موضوع مهمی است. در این مطالعه، میزان هشت نوع زهرابه قارچی مهم بررسی شده در نمونه‌های آرد کارخانجات اردبیل در فصل تابستان ناچیز و کمتر از بیشینه حدمجاز معرفی شده برای این زهرابه‌های قارچی توسط سازمان ملی استاندارد ایران بود. اگرچه این نتیجه از نظر ایمنی بهداشتی امیدوارکننده و رضایت‌بخش است، اما تکرار این ارزیابی‌ها در سایر فصول سال برای گندم اردبیل ضروری است. همچنین توصیه می‌شود ارزیابی زهرابه‌های قارچی در سبوس گندم، آرد لوآش و بربری را در مقیاس بزرگتر بررسی و وضعیت این زهرابه‌های در انواع نان پس از پخت در استان اردبیل بررسی شود. تلاش‌های مشترک بین محققان، تولیدکنندگان و سازمان‌های نظارتی برای اطمینان از اینکه محصولات گندم استان اردبیل استانداردهای لازم برای مصرف انسانی را رعایت می‌کنند، بسیار مهم است زیرا با نظارت و بهبود ایمنی محصولات گندم، سلامت عمومی و امنیت غذایی در منطقه افزایش می‌یابد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان کلیه نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر، مستخرج از طرح پژوهشی تقاضامحور اداره کل استاندارد استان اردبیل است و نگارندگان مراتب سپاس خود را از این اداره کل به ویژه سرکار خانم دکتر مهین شرافتخواه به دلیل همکاری و تأمین هزینه این پژوهش ابراز می‌دارند.

صورت گرفته در خصوص اندازه‌گیری زیرالنون و داکسی‌نیوالنول در گندم، آرد گندم و نان خشک ۱۰ کشور، مقدار زیرالنون را در محدوده $230-31/6 \mu\text{g/kg}$ و مقدار داکسی‌نیوالنول را در محدوده $2420-234 \mu\text{g/kg}$ نشان داد (۲۳). بنابراین وضعیت آرد کارخانجات اردبیل در این فصل قابل قبول به نظر می‌رسد ولی پایش دقیق زهرابه‌های قارچی در سایر فصول لازم است. در بررسی انجام شده روی ۳۰ نمونه آرد سنگک در شیراز و اصفهان نیز میزان اکراتوکسین A با روش ELISA با میانگین $1/25 \text{ ng/g}$ تعیین شد و غلظت هیچ‌کدام از نمونه‌ها بیش از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران و اتحادیه اروپا نبود (۲۴). در گندم‌های وارداتی از کشورهای حوزه دریای خزر هم میانگین اکراتوکسین A، $2/24 \text{ ng/g}$ و پایین‌تر از حدود مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران تشخیص داده شد (۲۱).

همچنین نتایج حاصل از HPLC نشان داد که مقادیر آفلاتوکسین B_1 و G_1 در نمونه‌های آرد کمتر از توان تشخیصی دستگاه ($0/5 \text{ ng/g}$)، مقدار آفلاتوکسین B_1 کمتر از بیشینه حد مجاز و مقادیر آفلاتوکسین B_2 و G_2 کمتر از توان تشخیصی دستگاه برای این زهرابه‌های قارچی ($0/1 \text{ ng/g}$) هستند. در خصوص آفلاتوکسین B_2 ، G_1 و G_2 در استاندارد ملی ایران بیشینه حد مجاز ذکر نشده است. مقدار آفلاتوکسین کل هم کمتر از $1/2 \text{ ng/g}$ بود که از بیشینه حد مجاز ذکر شده برای این زهرابه قارچی (15 ng/g) در استاندارد شماره ۵۹۲۵ سازمان استاندارد ملی ایران پایین‌تر است. در مطالعات قبلی، میزان آفلاتوکسین B_1 در ۱۰ نمونه از ۲۲ نمونه آرد شهرستان چالوس آلودگی بیشتر از حد مجاز استاندارد ایران و در تمامی نمونه‌ها، کمتر از مقدار حد مجاز جهانی گزارش شده بود (۲۵). هزینه بالای آنالیز نمونه‌ها محدودیت اصلی این پژوهش بود و تعداد محدود نمونه‌های انتخابی ناشی از این محدودیت مهم بود.

نتیجه‌گیری

تجزیه و تحلیل سطوح زهرابه‌های قارچی در آرد گندم در ایران

References

1. Awuchi CG, Ondari EN, Ogbonna CU, Upadhyay AK, Baran K, Okpala COR, et al. Mycotoxins affecting animals, foods, humans, and plants: Types, occurrence, toxicities, action mechanisms, prevention, and detoxification strategies—A revisit. *Foods*. 2021;10(6):1279.
2. Bennett J, Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003;16(3):497-516.
3. Janik E, Niemcewicz M, Ceremuga M, Stela M, Saluk Bijak J, Siadkowski A, et al. Molecular aspects of mycotoxins- A serious problem for human health. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(21):8187.
4. Marc RA. Implications of mycotoxins in food safety. *Mycotoxins and food safety-recent advances*. London: IntechOpen; 2022. p. 1-32.
5. El Sayed RA, Jebur AB, Kang W, El Demerdash FM. An overview on the major mycotoxins in food products: Characteristics, toxicity, and analysis. *Journal of Future Foods*. 2022;2(2):91-102.
6. Eskola M, Kos G, Elliott CT, Hajslova J, Mayar S, Krska R. Worldwide contamination of food-crops with mycotoxins: Validity of the widely cited 'FAO estimate' of 25%. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2020;60(16):2773-89.
7. Barac A. Mycotoxins and human disease. In: Presterl E, editor. *Clinically relevant mycoses: a practical approach*. Berlin: Springer; 2019. p. 213-25.
8. Marasas WF, Van Rensburg SJ, Mirocha CJ. Incidence of *Fusarium* species and the mycotoxins, deoxynivalenol and zearalenone, in corn produced in esophageal cancer areas in Transkei. *Journal of Agricultural and Food chemistry*. 1979;27(5):1108-12.
9. Marasas WFO, Nelson PE, Toussoun TA. *Toxigenic Fusarium species. Identity and mycotoxicology*. University Park: Pennsylvania State University; 1984.
10. Atchison J, Head L, Gates A. Wheat as food, wheat as industrial substance; comparative geographies of transformation and mobility. *Geoforum*. 2010;41(2):236-46.
11. Wang Y, Jian C. Sustainable plant-based ingredients as wheat flour substitutes in bread making. *NPJ Science of Food*. 2022;6(49):1-16.
12. Zhang H, Wang H, Cao X, Wang J. Preparation and modification of high dietary fiber flour: A review. *Food Research International*. 2018;113:24-35.
13. Davari M, Safaie N, Darvishnia M, Didar Taleshmikaeel R. Occurrence of deoxynivalenol producing isolates of *Fusarium graminearum* species complex associated with head blight of wheat in Moghan area. *Journal of Crop Protection*. 2014;3(2):113-23.
14. Yu J, Pedroso IR. Mycotoxins in cereal-based products and their impacts on the health of humans, livestock animals and pets. *Toxins*. 2023;15(8):1-41.
15. Jahanbakhsh M, Afshar A, Momeni Feeli S, Pabast M, Ebrahimi T, Mirzaei M, et al. Probabilistic health risk assessment (Monte Carlo simulation method) and prevalence of aflatoxin B1 in wheat flours of Iran. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*. 2021;101(8):1074-85.
16. Gholampour Azizi I, Arjmandi J, Ahmadi S,

- Rouhi S. A Comparative Study on Deoxynivalenol Mycotoxin Level in Wheat Flour and Bread Samples. The Journal of Qazvin University Medical Sciences. 2020;24(4):366-73.
17. Jiang D, Chen J, Li F, Li W, Yu L, Zheng F, et al. Deoxynivalenol and its acetyl derivatives in bread and biscuits in Shandong province of China. Food Additives & Contaminants: Part B. 2018;11(1):43-48.
18. Batrinou A, Houhoula D, Papageorgiou E. Rapid detection of mycotoxins on foods and beverages with enzyme-linked immunosorbent assay. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods. 2020;12(1):40-49.
19. Wu L, Qiu L, Zhang H, Sun J, Hu X, Wang B. Optimization for the production of deoxynivalenol and zearalenone by *Fusarium graminearum* using response surface methodology. Toxins. 2017;9(2):1-17.
20. Yazdanpanah H, Shafaati A, Foroutan SM, Zarghi A, Aboul Fathi F, Khoddam A, et al. Occurrence of deoxynivalenol in foods for human consumption from Tehran, Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2014;13(supplement):87-92.
21. Farahmandfar R, Rashidai Abandansari S, Maghsoudlou E, Asnaashari M. Determination of mycotoxin contamination in imported wheat to Mazandaran province by high performance liquid chromatography. Iranian Journal of Health and Environment. 2018;11(1):15-24 (in Persian).
22. Hedayati M. A Survey on wheat samples for mycotoxin zearalenone from Mazandaran Province 2002. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2005;15(49):89-94 (in Persian).
23. Girolamo AD, Ciasca B, Pascale M, Lattanzio VM. Determination of zearalenone and trichothecenes, including deoxynivalenol and its acetylated derivatives, nivalenol, T-2 and HT-2 toxins, in wheat and wheat products by LC-MS/MS: A collaborative study. Toxins. 2020;12(12):1-17.
24. Mohamad Hassani F, Mirlohi M, Taghizadeh M. Prevalence of Ochratoxin A in sangak bread flour and the effect of baking and fermentation on this contaminant. Journal of Health System Research. 2017;13(3):322-27 (in Persian).
25. Zaboli F, Gholampour Azizi I, Rouhi S, Azimi M. Determination of aflatoxin in wheat flour samples by ELISA in Chalus city (Mazandaran province). Zanko Journal of Medical Sciences. 2014;15(44):60-67 (in Persian).



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



Study of mycotoxins in wheat flour manufactured in Ardabil factories

Mahdi Davari^{1*}, Habibollah Eskandari², Mahin Pouresmaeil¹

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

ARTICLE INFORMATION:

Received: 17 February 2025

Revised: 07 May 2025

Accepted: 12 May 2025

Published: 14 December 2025

Keywords: Wheat flour immunity, Food analysis, Deoxynivalenol, Aflatoxin, Mycotoxins

***Corresponding Author:**

mdavari@uma.ac.ir

ABSTRACT

Background and Objective: Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by fungi that contaminate food products such as wheat and pose significant health risks when consumed by humans.

Materials and Methods: This study aimed to analyze eight mycotoxins—deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A (OTA), total aflatoxins, and the individual aflatoxins B1, B2, G1, and G2—in flour samples collected from factories in Ardabil city. To this end, eight samples were analyzed, including six lavash bread flour samples and two barbari bread flour samples. Solid-phase extraction using immunoaffinity columns, followed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with spectrofluorimetric detection, was employed to measure the concentrations of the targeted mycotoxins.

Results: The results showed that deoxynivalenol was detected in three lavash flour samples at concentrations of 178.7, 136.4, and 188 ng/g. In contrast, the remaining lavash samples and all barbari flour samples had deoxynivalenol levels below the instrument's detection limit of 100 ng/g. Additionally, all other analyzed mycotoxins were below the detection limits in all flour samples.

Conclusion: This study found that the levels of all eight fungal mycotoxins in wheat flour were below the permissible limits defined by Standard No. 5925 of the National Standards Organization of Iran, indicating no significant threat to human health. Despite these reassuring results, it is recommended to regularly monitor various types of flour and other wheat-based products across different seasons, due to potential variations in wheat supply from different regions of the country or from international sources.

Please cite this article as: Davari M, Eskandari H, Pouresmaeil M. Study of mycotoxins in wheat flour manufactured in Ardabil factories. Iranian Journal of Health and Environment. 2025;18(3):391-404.

