# ارزیابی میزان اکراتوکسین A کشمش‌های تولید شده در کارخانه‌های استان همدان و بررسی همبستگی بین آلودگی با درصد دانه‌های معیوب

علی حشمتی[1*]، علی اصغر وحیدی نیا[1]، مرضیه جعفری[2]

۱- استادیار گروه بیوشیمی و تغذیه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۲- دانشجوی دکتری سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
* نویسنده مسئول مکاتبات: Ali_heshmaati@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۲/۷/۳ پذیرش نهایی: ۹۲/۹/۳۰)

## چکیده

یکی از انواع مایکوتوکسین‌ها شایع در کشمش، اکراتوکسین A است که نفروتوکسین بالقوه در انسان بوده و یک سم تراتوژن، موتاژن و سرطان‌زا و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی می‌باشد. هدف از این تحقیق تعیین مقدار اکراتوکسین در کشمش تولیدی کارخانجات استان همدان و ارتباط آن با درصد دانه‌های معیوب می‌باشد. شصت و شش نمونه کشمش از ۲۲ کارخانه تولیدکننده کشمش در سطح استان همدان در سال ۱۳۹۱-۱۳۹۰ نمونه‌برداری گردید. اکراتوکسین از نمونه‌ها استخراج و با استفاده از ستون‌های ایمنوافینتی تخلیص و مقدار آن با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد. درصد دانه‌های معیوب با تقسیم وزن دانه‌های نارس، آسیب‌دیده، کپک‌زده، آفت‌زده و شکرک‌زده بر وزن نمونه تعیین گردید. مقدار متوسط اکراتوکسین و دانه‌های معیوب نمونه‌ها به ترتیب µg/kg ۱/۷۲ و ۳/۴۹ درصد بود. مقدار ۳۴/۸۵٪ (۲۳ نمونه) فاقد اکراتوکسین بودند و در ۵۷/۵۷٪ (۳۸ نمونه) مقدار اکراتوکسین کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (۵ µg/kg) و در ۷/۵۸٪ (۵ نمونه) بیشتر از آن بود. در تمامی نمونه‌ها مقدار دانه معیوب کمتر از حداکثر مقدار مجاز (۱۰٪) بود. بین درصد دانه‌های معیوب با مقدار اکراتوکسین همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$).

**واژه‌های کلیدی:** اکراتوکسین، مایکوتوکسین، کشمش، همدان، HPLC

## مقدمه

اکراتوکسین یکی از انواع مایکوتوکسین‌هایی است که بوسیله کپک *آسپرژیلوس اکراسئوس*، *آسپرژیلوس کربوناریوس* و *پنی‌سیلیوم وروکوسوم* تولید می‌گردد (Atkins and Norman, 1998). اکراتوکسین شامل حداقل هفت توکسین مختلف از نظر ساختمانی است که وابستگی نزدیکی به هم دارند. اما سمی‌ترین آنها، اکراتوکسین A است. اکراتوکسین سم بالقوه کلیه و یک عامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی (immunosuppressive) است و در حیوانات آزمایشگاهی خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی دارد. اکراتوکسین به‌عنوان عامل نفروپاتی اندمیک بالکان (Balkan Endemic Nephropathy) شناخته شده است. آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer) اکراتوکسین A را به‌عنوان 2B carcinogen (کارسینوژنیک ممکن برای انسان) طبقه‌بندی نموده است (Ravelo Abreu *et al.*, 2011; Aish *et al.*, 2000). بنابراین کنترل مقدار اکراتوکسین مواد غذایی یکی از مسائل مهم در ارتقای سطح ایمنی مواد غذایی می‌باشد و در کشورهای مختلف تلاش بر این است تا مقدار آلودگی اکراتوکسین در محصولات غذایی به حداقل ممکن کاهش یابد.

آلودگی به اکراتوکسین در بسیاری از اقلام غذایی از جمله غلات (Wu *et al.*, 2012; Ravelo Abreu *et al.*, 2011; Duarte *et al.*, 2010) و فرآورده‌های آن (Aragua *et al.*, 2005)، قهوه (Kumar *et al.*, 2012)، گوشت (Monaci *et al.*, 2004) و ادویه‌جات (Waskiewicz *et al.*, 2013) گزارش شده است. یکی از فرآورده غذایی که مستعد برای رشد قارچ‌های تولیدکننده اکراتوکسین است انگور و محصولات بدست آمده از آن نظیر کشمش می‌باشد. کپک‌ها در سطح خاک تاکستان وجود دارد و طی برداشت انگور را آلوده می‌نمایند. صدمه دیدن حبه‌های انگور و نگه‌داری در دماهای بالا سبب تسریع رشد کپک‌ها و از جمله کپک‌های تولیدکننده اکراتوکسین در انگور می‌گردد (Hocking *et al.*, 2007). کشمش یکی از منابع مهم اکراتوکسین در رژیم غذایی است. اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی حد مجاز اکراتوکسین را در کشمش ۱۰ ng/kg تعیین کرده‌اند (European Commission, 2006; Food and Agriculture Organization, 2001). چندین مطالعه در مورد وجود اکراتوکسین در کشمش انجام شده است (Chiotta *et al.*, 2013; Feizy *et al.*, 2012; Varga and Kozakiewicz, 2006; MacDonald *et al.*, 1999). هیچ گزارشی از وجود اکراتوکسین در کشمش‌های تولیدشده در استان همدان وجود ندارد و تحقیقی در این رابطه انجام نشده است. هدف از تحقیق تعیین مقدار اکراتوکسین در کشمش و بررسی رابطه آلودگی با کیفیت محصول (درصد دانه‌های معیوب) در نمونه آنالیز شده می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**مواد شیمیایی**: استاندارد اکراتوکسین A (۱۰۰۰ ng/ml) از شرکت Faroogh (ایران) خریداری شد. ستون ایمنو افینتی (PF-OTA-3-10) از شرکت Libios (فرانسه)، متانول، استونیتریل، اسید استیک، کربنات هیدروژن سدیم و محلول فسفات بافر(PBS) از شرکت Merck (آلمان) تهیه شد.

**نمونه‌های کشمش**: در این مطالعه ۶۶ نمونه کشمش از ۲۲ کارخانه تولیدکننده کشمش در سطح استان همدان طی سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۱ نمونه‌برداری گردید و به آزمایشگاه ارسال شدند. نمونه‌برداری از کشمش هر کارخانه به روش تصادفی انجام گرفت. ابتدا از چند محموله به روش تصادفی نمونه‌های انتخاب شد و از آنها نمونه‌برداری صورت گرفت و نمونه‌ها با هم مخلوط و از مخلوط بدست آمده حدود ۱ کیلو نمونه‌برداری شد و جهت تعیین پارامترهای ذیل به آزمایشگاه ارسال گردید. نمونه‌ها تا زمان آنالیز در یخچال و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

**تعیین درصد دانه‌های معیوب نمونه‌های کشمش**: به مجموع دانه‌های نارس، آسیب‌دیده، کپک‌زده، آفت‌زده، شکرک‌زده (برحسب درصد وزنی) موجود در یک نمونه کشمش دانه‌های معیوب گفته می‌شود (ISIRI, No: 17). مقدار درصد دانه‌های معیوب در نمونه‌ها با روش چشمی تعیین می‌گردد. برای اندازه‌گیری دانه‌های معیوب ۱۰۰ گرم از نمونه وزن شد و مجموع دانه‌های نارس، آسیب‌دیده، کپک‌زده، آفت‌زده، شکرک‌زده آن جدا شد و وزن گردید از تقسیم وزن این دانه‌ها بر وزن کل نمونه و ضرب حاصل تقسیم در صد مقدار دانه‌های معیوب بر حسب درصد تعیین گردید.

**اندازه‌گیری اکراتوکسین**: اکراتوکسین مطابق روش استاندارد ملی کشور به‌شماره ۹۲۳۷ با اندکی تغییرات اندازه‌گیری شد (ISIRI, No: 9237). اندازه‌گیری شامل مراحل ذیل بود:

**رسم منحنی کالیبراسیون**: از محلول ۱۰۰۰ ng/ml اکراتوکسین محلول‌های ۱، ۲/۵ ، ۵، ۱۰و ۱۵ ng/ml در آب و متانول ( مخلوط ۵۰ : ۵۰ آب و متانول) تهیه و ۵۰ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق شد تزریق هر استاندارد سه بار تکرار شد.

**بازیابی اکراتوکسین**: برای بررسی بازیابی (Recovery) روش آنالیز، اکراتوکسین به مقادیر ۱، ۵ و ۱۰µg/kg به نمونه کشمش اضافه و پس از هم‌زدن و استخراج مقدار آن اندازه‌گیری شد. با تقسیم مقدار اندازه‌گیری شده به مقدار اضافه شده و ضرب حاصل با صد، مقدار درصد بازیابی تعیین شد.

**استخراج اکراتوکسین از کشمش**: به ۵۰۰ گرم کشمش ۷۵۰ گرم آب اضافه و نمونه به دستگاه خمیرکن (Slurry) منتقل و آسیاب شد تا خمیر بدست آید. ۵۰ گرم از نمونه آسیاب شده در داخل بشر پلاستیکی توزین و و پس از اضافه کردن ۳۰۰ میلی‌گرم کربنات هیدروژن سدیم و ۷۰ میلی‌لیتر متانول به آن، به‌مدت ۳ دقیقه با مخلوط‌کن بهم زده شد. عصاره بدست آمده توسط کاغذ صافی (Whatman No. 4) صاف شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده با ۴۰ میلی‌لیتر بافر شستشو (محلول توئین) رقیق گردید و ۴۰ میلی‌لیتر از آن از ستون ایمونوافینیتی عبور داده شد.

**تخلیص اکراتوکسین**: ستون ایمونوافینتی از یخچال خارج و آماده گردید (Preconditioning). به این ترتیب که ابتدا به دمای اتاق رسانده و ۱۰ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر با سرعت ۲ میلی‌لیتر در دقیقه از آن عبور داده شد. سپس ۴۰ میلی‌لیتر از عصاره رقیق گردیده از ستون با سرعت دو یا سه میلی‌لیتر در دقیقه عبور داده شد. سپس ستون ابتدا با ۱۰ میلی‌لیتر محلول فسفات بافر و بعد با ۱۰ میلی‌لیتر آب شستشو داده شد و برای جداسازی اکراتوکسین از ستون از متانول استفاده گردید. ستون دو مرتبه با متانول (در مجموع با ۱/۵

میلی‌لیتر متانول) شسته شد و متانول حاصل از شستشوی ستون داخل ویال برای تزریق به دستگاه HPLCریخته شد.

**جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار اکراتوکسین:** جداسازی با استفاده از روش کروماتوگرافی فاز معکوس مایع با کارآیی بالا انجام گرفت. ۵۰ میکرولیتر از محتویات ویال به دستگاه HPLC تزریق و پس از محاسبه سطح زیر پیک مقدار اکراتوکسین تعیین شد.

**محاسبه حد تشخیص** Limit of Detection (LOD) **و حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری** (LOQ): برای محاسبه LOD و LOQ روش آنالیز ابتدا سه بار نمونه شاهد (نمونه فاقد اکراتوکسین) به HPLC تزریق و سطح نوفه (Noise) در محل پیک اکراتوکسین اندازه‌گیری شد و انحرف معیار این سه بار تعیین گردید. با فرمول زیر LOD و LOQ محاسبه شدند.

$LOD = (3 \times$ انحراف معیار شاهد$)/($شیب خط کالیبراسیون$)$

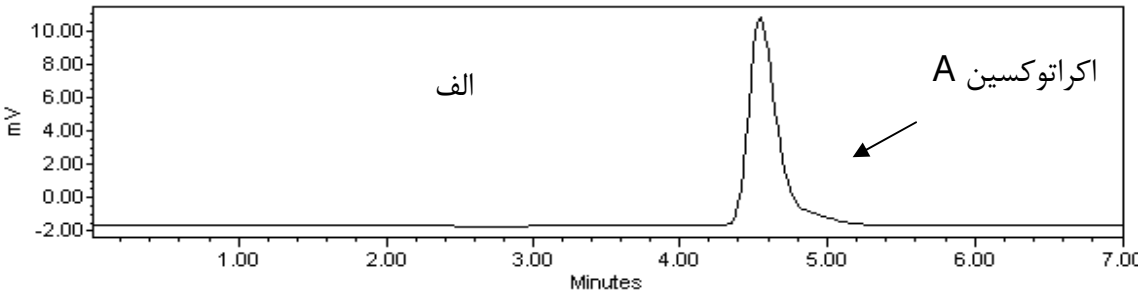
$LOQ = (10 \times$ انحراف معیار شاهد$)/($شیب خط کالیبراسیون$)$

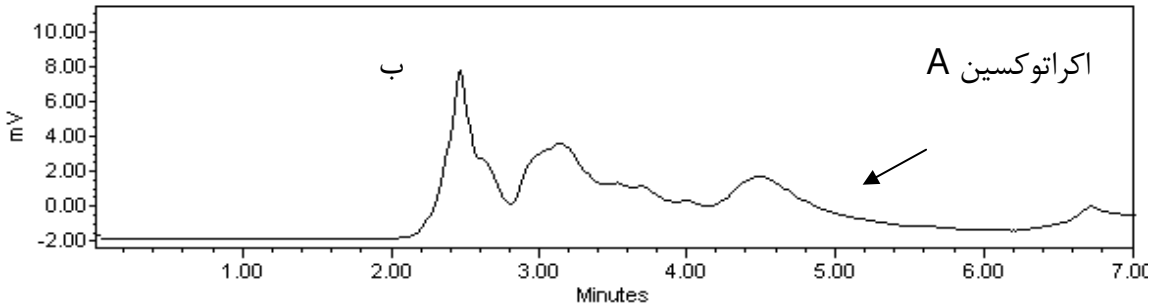
**روش آنالیز:** اکراتوکسین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) ساخت شرکت Waters (آمریکا) و با ستون Monolitic RPC18 (با طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر) و آشکارساز فلورسانس (موج تهییج ۳۳۳ نانومتر و نشر ۴۷۷ نانومتر) اندازه‌گیری شد. روش آنالیز به‌صورت ایزوکراتیک با فاز متحرک شامل مخلوط الف: استونیتریل (۳۹٪) ب: آب (۳۰٪) پ: متانول (۳۰٪) و د: اسید استیک (۱٪) با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه انجام گردید.

**تجزیه و تحلیل آماری:** برای انجام تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS version 16.0 استفاده شد. از آزمون تی تست یک نمونه‌ای (one-sample T- test) برای مقایسه بین میانگین مقدار اکراتوکسین نمونه‌ها با حدود مجاز بر اساس استاندارد ملی کشور (۵ µg/kg) استفاده شد. از ضریب همبستگی پیرسون برای تعیین رابطه بین مقدار اکراتوکسین و درصد دانه‌های کشمش‌های معیوب در نمونه‌های آنالیز شده، استفاده گردید.

## یافته‌ها

شکل ۱ کروماتوگرام محلول استاندراد اکراتوکسین A و همچنین کروماتوگرام اکراتوکسین A در نمونه کشمش نشان می‌دهد.






شکل ۱- الف: کروماتوگرام محلول استاندارد اکراتوکسین A (۱۵ ng/ml) ب: کروماتوگرام اکراتوکسین A در نمونه کشمش آلوده به سم اکراتوکسین A

زمان بازداری (Retention Time) اکراتوکسین A حدود ۴/۶ دقیقه بود. منحنی کالیبراسیون اکراتوکسین A در محدوده ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ و ۱۵ ng/ml خطی و از ضریب رگرسیون بالایی برخوردار بود. معادله خط کالیبراسیون عبارت است از:

$Y=۱۳۲۰۴ x -۴۰۲۲ /۵$ $R^2=۰/۹۹۴۳$

LOD و LOQ روش آنالیز به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۵۲ µg/kg بود. مقدار بازیابی اکراتوکسین A در مقادیر ۱، ۵ و ۱۰ µg/kg از کشمش به ترتیب ۷۷/۲٪ ، ۸۲/۹ ٪و ۸۵/۷٪ (متوسط ۸۱/۹) بود.

مقدار متوسط اکراتوکسین و درصد دانه‌های معیوب نمونه‌ها به ترتیب ۱/۷۲ µg/kg و ۳/۴۹ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱- وضعیت اکراتوکسین و درصد دانه‌های معیوب نمونه‌ها

| ویژگی مورد بررسی | تعداد نمونه‌های آنالیز شده | میانگین | انحراف معیار | ماکزیمم | مینیمم |
|---|---|---|---|---|---|
| مقدار اکراتوکسین A (µg/kg) | ۶۶ | ۱/۷۲ | ۲/۰۳ | ۸/۴۰ | ۰ |
| درصد دانه‌های معیوب | ۶۶ | ۳/۴۹ | ۱/۸۳ | ۱۰/۰ | ۰ |

در جدول ۲ مقدار اکراتوکسین نمونه‌ها در گروه‌ها با محدوده معین ذکر شده است. ۲۳ نمونه فاقد اکراتوکسین و در ۳۸ نمونه مقدار اکراتوکسین کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (۵ µg/kg) بود. و در ۵ نمونه مقدار اکراتوکسین بیشتر از حد مجاز بود. در تمامی نمونه‌ها مقدار اکراتوکسین از حد مجاز اکراتوکسین در اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی (۱۰ µg/kg) کمتر بود. نتایج آزمون تی تست نشان داد که مقدار متوسط اکراتوکسین به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران، اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی است.

ضریب همبستگی بین مقدار اکراتوکسین نمونه‌ها و درصد دانه‌ها معیوب ۰/۲۱ بود و مقدار p بین این دو ($p=۰/۰۹۲$) بیشتر از ۰/۰۵ بود لذا ضریب همبستگی بین این دو از نظر آماری غیر معنی‌دار بود.

جدول ۲- محدوده مقدار اکراتوکسین در نمونه‌ها

| محدوده اکراتوکسین در نمونه‌ها (µg/ kg) | تعداد نمونه | درصد |
|---|---|---|
| فاقد اکراتوکسین | ۲۳ | ۳۴/۹ |
| ۰/۱۶ –۵ | ۳۸ | ۵۷/۵ |
| ۵ –۱۰ | ۵ | ۷/۶ |
| بیشتر از ۱۰ | ۰ | ۰ |

## بحث و نتیجه‌گیری

اکراتوکسین‌ها از متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که توسط کپک‌های جنس آسپرژیلوس ایجاد می‌گردند. این کپک‌ها در زمان تولید و برداشت، انگور را آلوده می‌نمایند. لذا پس از خشک کردن آن کشمش بدست آمده حاوی سم می‌باشد. مقدار متوسط آلودگی در نمونه‌های کشمش بررسی شده در این تحقیق (µg/kg ۱/۷۲) کمتر از سایر مطالعات انجام شده است. در تحقیق انجام شده بوسیله (Feizy *et al*., 2012) از ۲۲ نمونه کشمش دانه‌دار و ۱۸ نمونه کشمش بی‌دانه در مشهد به ترتیب ۳ و ۱ نمونه آلوده به اکراتوکسین بودند و مقدار متوسط آلودگی به ترتیب ۲/۲۱ و ۲/۹۹ µg/kg بود. مقدار متوسط آلودگی گزارش شده در کشمش در بریتانیا در حدود µg/kg ۹/۱۹–۲/۷۹ و در کانادا در حدود µg/kg ۲/۸ –۱/۸ گزارش شده است (MAFF, 1999; Lombaert *et al*., 2004).

در برخی مطالعات مقدار آلودگی کمتری از نتایج این مطالعه برای کشمش گزارش شده است. میانگین اکراتوکسین در نمونه‌های کشمش در آمریکا طی سال‌های ۱۹۹۷ تا ۱۹۹۹ در حدود µg/kg ۱/۲۷– ۰/۴۲ بود (Aish *et al*., 2001).

در ۷/۶ ٪ نمونه‌های بررسی شده در این تحقیق مقدار آلودگی بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی یعنی µg/kg ۵ بود. در حالیکه در نمونه کشمش بررسی شده بوسیله فیضی و همکاران در هیچکدام از نمونه‌ها آلودگی از حد مجاز بیشتر نبود.

مقدارمتوسط اکراتوکسین در نمونه‌های کشمش بررسی شده در این مطالعه در مقایسه با نتایج بدست آمده برای سایر فرآورده‌ها مصرفی در کشور مثل غلات صبحانه (ماه‌تابانی و همکاران، ۱۳۹۰) و برنج (هادیان و همکاران، ۱۳۸۸) و ماء الشعیر (Mahdavi *et al*., 2007) بیشتر است. در هیچ یک از نمونه‌ها غلات صبحانه بررسی شده در کشور اکراتوکسین یافت نشد (ماه‌تابانی و همکاران، ۱۳۹۰). میانگین اکراتوکسین در برنج داخلی و وارداتی ایران به ترتیب µg/kg ۱/۳۷ و µg/kg ۱/۵۷ گزارش شده است (Mahdavi *et al*., 2007). مقدار متوسط آلودگی اکراتوکسین در نمونه‌های ماءالشعیر داخلی و وارداتی در شهر تبریز به ترتیب ng/l ۹۶/۰۴ و ng/l ۶۰/۷۱ بود (هادیان و همکاران، ۱۳۸۸).

براساس استانداردهای ملی کشور مربوط به کشمش بی‌دانه و دانه‌دار مقدار درصد دانه‌های معیوب کشمش نباید از ۱۰ درصد بیشتر باشد (ISIRI, No: 17 and

545) در این تحقیق محدوده درصد دانه‌های معیوب نمونه‌های بررسی شده ۱۰/۰ – ۰ درصد (بطور متوسط ۳/۵ درصد) بود و در تمامی نمونه‌ها مقدار درصد دانه معیوب کمتر از ماکزیمم مقدار مجاز بود. بنابراین می‌توان گفت کارخانجات کشمش اقدامات لازم برای حذف دانه‌های کشمش معیوب نظیر دانه‌های نارس، آسیب‌دیده، کپک‌زده، آفت‌زده و شکرک‌زده انجام می‌دهند. اگرچه تصور می‌شد بین مقدار درصد دانه‌های معیوب با مقدار آلودگی اکراتوکسین نمونه‌ها رابطه وجود داشته باشد اما نتایج تحقیق این موضوع را رد می کند و نشان داد که ارتباط معنی‌دار بین این دو فاکتور وجود ندارد. با اینکه مقدار اکراتوکسین در نمونه‌های کشمش مورد مطالعه کمتر از حد مجاز اکراتوکسین در اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی (۱۰ µg/kg) بود ولی از آنجائیکه حد مجاز این سم در کشور ۵ µg/kg در نظر گرفته شده لذا اکراتوکسین ۵ نمونه از این مقدار بیشتر است برای این منظور باید در افزایش کیفیت کشمش تولیدی اقدامات بیشتری انجام گیرد و از کپک زدن انگور جلوگیری به‌عمل آید و در زمان تولید کشمش از انگورهای مرغوب استفاده نمود.

نتایج این مطالعه نشان داد علیرغم اینکه کشمش یکی از فرآورده‌هایی است که احتمال آلودگی به اکراتوکسین در آن وجود دارد اما در نمونه‌های بررسی شده مقدار متوسط اکراتوکسین کمتر از حد مجاز آن در اتحادیه اروپا و سازمان خواربار جهانی (۱۰ µg/kg) بود (European Commission, 2006; Food and Agriculture Organization, 2001). با این حال در برخی نمونه‌ها (۵ نمونه) مقدار آن بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (۵ µg/kg) بود. به همین دلیل شرایط تولید کشمش باید بیشتر کنترل گردد و با حذف انگورهای کپک‌زده و جلوگیری از کپک زدن آنها در زمان تبدیل به کشمش مقدار این سم را در کشمش کاهش داد. هر چند بین کیفیت ظاهری کشمش یعنی مقدار درصد دانه‌های معیوب با مقدار اکراتوکسین ارتباط مستقم (مثبت) وجود دارد اما از نظر آماری یک ارتباط معنی‌دار نیست و لذا از ظاهر محصول دقیقاً نمی‌توان در مورد آلودگی آن به اکراتوکسین اظهار نظر کرد و گفت مقدار آلودگی آن بالا یا کم است و لازم است در نمونه‌های مورد نظر مقدار آن اندازه‌گیری شود.

## منابع

• ماه تابانی، آیدین؛ بیات، منصور؛ حسینی، سید ابراهیم؛ امین افشار، مهدی و توکلی، حمیدرضا (۱۳۹۰). ارزیابی میزان اکراتوکسین A و آفلاتوکسن‌های B1، B2، G1 و G2 در غلات عرضه شده در فروشگاه‌های شهر تهران به روش کروماتوگرافی با کارایی بالا در سال ۱۳۸۹. مجله پژوهشی حکیم، ۱۴(۱): ۱۵-۱۰.

• هادیان، زهرا؛ یزدان پناه، حسن؛ عزیزی، محمد حسین؛ سید احمدیان، فریبا؛ کوشکی، محمدرضا؛ حسینی پنجکی، سید محمد؛ مرتضایی، غلامرضا؛ شجاعی علی آبادی، فریبرز و خوشگذران، صادق (۱۳۸۸). میزان شیوع اکراتوکسین A در برنج فروشگاه‌های زنجیره‌ای شهر تهران در سال ۱۳۸۶. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۴(۲): ۵۹-۵۳.

- Aish, J.L., Rippon, E.H., Barlow, T. and Hattersley, S.J. (2000). Ochratoxin A. In: Magan, N. and M. Olsen, M. (eds.) Mycotoxins in food. CRC Press LLC, pp. 307-329.
- AraguaS, C., Gonza Lez-Pen As, E. and Lo Pez De Cerain, A. (2005). Study on ochratoxin A in cereal-derived products from Spain. Food Chemistry 92: 459–464.
- Atkins, D. and Norman, J. (1998). Mycotoxins and food safety. Nutrition and Food Science, 5: 260–266.
- Chiotta, M.L., Ponsone, M.L., Sosa, D.M., Combina, M. and Chulze, S.N. (2013). Biodiversity of Aspergillus section Nigri populations in Argentinian vineyards and ochratoxin A contamination. Food Microbiology, 36: 182-190.
- Duarte, S.C., Pena, A. and Lino, C.M. (2010). A review on ochratoxin A occurrence and effects of processing of cereal and cereal derived food products. Food Microbiology, 27**:** 187-198.
- European Commission (2006) Commission Regulation EC No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Union, EU publication, L 364/5FAO (1997). Worldwide Regulations for Mycotoxins. A Compendium. Food and Nutrition Paper 64 (Rome: Food and Agricultural Organisation).
- Feizy, J., Beheshti, H.R. and Asadi, M. (2012). Ochratoxin A and aflatoxins in dried vine fruits from the Iranian market. Mycotoxin research, 28: 237-242.
- Food and Agriculture Organization. (2001). Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Food and Nutrition Papers, 74: 281–415.
- Hocking, A.D., Leong, S.L., Kazi, B.A., Emmett, R.W. and Scott, E.S. (2007). Fungi and mycotoxins in vineyards and grape products. International Journal of Food Microbiology, 119: 84-88.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1977). Specification for Seeded Raisin. 4th Edition Isiri No. 545.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1992). Raisins Seedless -Specifications and Test Methods. 6th Edition Isiri No. 17.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2007). Dried fruits- determination of ochratoxin A by HPLC method and immunoaffinity column clean up-test method. first Edition Isiri No. 92375.
- Kumar, S., Kunwar, A., Gautam, S. and Sharma, A. (2012). Inactivation of A. ochraceus spores and detoxification of ochratoxin A in coffee beans by gamma irradiation. Journal of Food Science, 77: 44-51.
- Lombaert, G.A., Pellaers, P., Neumann, G., Kitchen, D., Huzel, V., Trelka, R., Kotello, S. and Scott, P.M. (2004). Ochratoxin A in dried vine fruits on the Canadian retail market. Food Additives and Contaminants, 21(6): 578-85.
- Macdonald, S., Wilson, P., Barnes, K., Damant, A., Massey, R., Mortby, E. and Shepherd, M.J. (1999). Ochratoxin A in dried vine fruit: method development and survey. Food Additives and Contaminants, 16: 253-260.
- Mahdavi, R., Hosseini Khorrami, S.A. and Vahed Jabbari, M. (2007). Evaluation of Ochratoxin a Contamination in non Alcoholic Beers in Iran Research Journal of Biological Sciences, 2: 546-550.
- Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. (1999). Survey of retail products for ochratoxin A, Food Surveillance Information sheet no. 185, London, Joint Food Safety and Standards Group.
- Monaci, G., Tantillo, F. and Palmisano, G. (2004). Determination of ochratoxin A in pig tissues by liquid–liquid extraction and clean-up and high-performance liquid chromatography, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 378: 1777-1782.
- Ravelo Abreu, A., Rubio Armendariz, C., Gutierrez Fernandez, A.J. and Hardisson De La Torre, A. (2011). Ochratoxin A in foods for human consumption: review. Nutrición Hospitalaria, 26: 1215-26.
- Varga, J. and Kozakiewicz, Z. (2006). Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. Trends in Food Science & Technology, 17: 72-81.
- Waskiewicz, A., Beszterda, M., Bocianowski, J. and Golinski, P. (2013). Natural occurrence of fumonisins and ochratoxin A in some herbs and spices commercialized in Poland analyzed by UPLC-MS/MS method. Food Microbiology, 36: 426-31.

• Wu, J., Tan, Y., Wang, Y. and Xu, R. (2012). Occurrence of ochratoxin A in grain and manufactured food products in China detected by HPLC with fluorescence detection and confirmed by LC-ESI-MS/MS. Mycopathologia, 173: 199-205.

# Survey of ochratoxin A in raisin produced in Hamadan province factories and relationship between contamination with defective seeds

**Heshmati, A.[1*], Vahidini, A.[1], Jafari, M. [2]**

1- Assistant Professor, Biochemistry and Nutrition Department, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran.
2- Student of Ph.D in Toxicology Department, Ahvaz University of Medical Sciences and Health Services, Ahvaz, Iran.
[*]Corresponding author email: ali_heshmati@yahoo.com
(Received: 2013/6/25 Accepted: 2013/11/3)

## Abstract

Ochratoxin A is one of the most common of raisin mycotoxins which is potential nephrotoxin in human and a teratogenic, mutagenic, carcinogenic and immunosuppressive toxin. The aim of this study was to determine the amount of ochratoxin in raisin produced in Hamadan factories and its relationship with product quality (percentage of defective seeds). Sixty six raisin samples from 22 raisin producing plants in Hamadan province gathered in 2011-2012. Ochratoxin A from samples was extracted, cleaned up by immunoaffinity column and quantified with HPLC. Defective seed contents (in percentage) were determined by dividing unripe, damaged, moldy and sugary seed weight to sample weight (100 g). Ochratoxin average value and defective seed percentage was 1.72 µg/kg and 3.49%, respectively. Twenty three sampled had no ochratoxin; in 38 samples, Ochratoxin level was less than the national standard level (5 µg/kg); 5 samples had ochratoxin level more than 5 µg/kg. In all samples, defective seed percentage was less than the maximum allowable amount (10%). The apparent quality of raisin, defective seed percentage, was not significantly correlated with the amount of ochratoxin ($P< 0.05$).

**Key words**: Ochratoxin, Mycotoxins, raisin, Hamadan, HPLC