

سنجش میزان آفاتوکسین B1 در انواع کالباس های عرضه شده در شهرستان کرج به روش الایزا

شقایق سلطانزاده^۱، سیدمجید هاشمی^{۲*}

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: majidhashemi54@gmail.com

چکیده

مایکوتوکسین ها دارای انواع مختلفی از اثرات سمی و سرطان زایی بر سلامت حیوانات و انسان هستند. آفاتوکسین B1 متابولیت ثانویه آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس است که وجود آن در مواد غذایی می تواند سلامت مصرف کنندگان را مورد مخاطره قرار دهد. هدف از مطالعه حاضر، بررسی و مقایسه میزان آفاتوکسین B1 در انواع کالباس های عرضه شده در شهرستان کرج به روش الایزا بود. در این پژوهش تعداد ۹۰ نمونه کالباس شامل کالباس دارای مغز دانه ها و کالباس های فاقد مغز دانه ها در زمستان ۱۴۰۲ به صورت تصادفی از مراکز عرضه این محصول در شهرستان کرج نمونه گیری و در شرایط بهداشتی و یخچالی به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی جهت بررسی میزان آفاتوکسین B1 توسط روش الایزا انتقال داده شد. از مجموع ۹۰ نمونه کالباس مغزدار و بدون مغز، ۴۷ نمونه (۵۲/۲۲ درصد) به آفاتوکسین B1 آلوده بودند که بالاترین میزان آلودگی در کالباس های مغزدار بود، به گونه ای که به ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی به آفاتوکسین B1 مربوط به کالباس خشک مغزدار (۱۰۰ درصد)، کالباس پیرونی مغزدار (۹۳/۳۳ درصد) و کالباس مارتادلا مغزدار (۸۶/۶۶ درصد) بود. با این وجود، هیچ کدام از نمونه های کالباس، آلودگی فراتر از استاندارد ایران را نداشتند. چنانکه بیشترین میزان آلودگی به آفاتوکسین B1 (۵۵/۸۵ درصد) در محدوده کمتر از ۱۰ (میکروگرم بر کیلوگرم) بود. با توجه به نتایج به دست آمده، استفاده از این محصولات، برای مصرف کنندگان نمی تواند خطری به همراه داشته باشد. اما لازم است به جهت کاهش هر چه بیشتر آلودگی به آفاتوکسین B1 دستورالعمل های سخت گیرانه تری توسط مراجع ذیصلاح اعمال گردد، تا سلامت مصرف کنندگان مورد مخاطره قرار نگیرد.

واژه های کلیدی: آفاتوکسین B1، ایمنی غذایی، فرآورده های گوشتی، الایزا

مقدمه

امروزه با توجه به صنعتی شدن دنیا و رخداد انواع گوناگونی از بیماری های نوظهور، سلامت جوامع که تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند سلامت مواد غذایی قرار دارد، بارزترین اولویت در جوامع بشری است؛ لذا شناسایی و اندازه گیری این عوامل آلاینده مواد غذایی که می توانند سلامت موجودات زنده به ویژه انسان را تحت تأثیر قرار دهند،

بسیار مهم است (Tripathy et al., 2017). یکی از آلاینده‌هایی که سلامتی موجودات زنده را مورد مخاطره قرار می‌دهند، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا هستند که شامل باکتری‌ها، کپک‌ها، ویروس‌ها و پروتوزوآها هستند. کپک‌ها متابولیت‌هایی را پدید می‌آورند که مایکوتوکسین‌ها غالب‌ترین آن‌ها هستند (Chaitanya et al., 2024). مایکوتوکسین‌ها دسته‌ای از مواد سمی و آلاینده مواد غذایی، خوراک دام و طیور هستند که به‌طور طبیعی از انواع خاصی از کپک‌ها تولید می‌شوند. تولید مایکوتوکسین‌ها با توجه به گونه قارچ و شرایط محیطی رشد کپک، رطوبت و دما متفاوت است. قارچ‌ها به میزان زیاد در هوا، خاک و محیط اطراف ما وجود دارند و از راه‌های مختلفی مانند همزیستی یا روابط پاتوژنیک با گیاهان، حیوانات یا انسان‌ها می‌توانند با میزبان‌های خود در تعامل باشند (Lee et al., 2015). از میان صدها مایکوتوکسین، آفلاتوکسین B1، فومونیسین B1، دئوکسی نیوالنول، اکراتوکسین، تریکوتسن‌ها و زیرالونون مهم‌ترین آن‌ها هستند که دارای بیشترین عوارض پس از مصرف هستند (Lee et al., 2024). آفلاتوکسین‌ها (AFs) مشتقات دیفورانونوکومارین هستند که توسط بسیاری از گونه‌های *آسپرژیلوس فلاووس* (*Aspergillus flavus*)، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (*Aspergillus parasiticus*) و *آسپرژیلوس نومیوس* (*Aspergillus nomius*) تولید می‌شوند که گیاهان و محصولات گیاهی را آلوده می‌کنند. آن‌ها در مواد غذایی مختلف از بسیاری از نقاط جهان شناسایی شده‌اند و در حال حاضر به‌عنوان یکی از خطرناک‌ترین آلاینده‌های غذاها و خوراک‌ها به شمار می‌روند (Juan et al., 2008).

رشد این گونه کپک‌ها می‌تواند قبل و یا پس از برداشت محصول، طی نگهداری و انبار نمودن مواد غذایی در شرایط گرم و مرطوب صورت بگیرد. آفلاتوکسین‌ها، نسبت به سایر سموم تولیدشده توسط قارچ‌ها به علت اثرات سرطان‌زایی خطرناک‌تر هستند. از دیگر عوارض آن‌ها می‌توان به ایجاد جهش در ساختار ژنی، ناقص‌الخلقه زایی، ایجاد سرطان به‌خصوص سرطان کبد و ایجاد مشکلات گوارشی و تنفسی اشاره کرد (Dellafiora and Dall'Asta, 2017, Paterson and Lima, 2010, Awuchi et al., 2022).

تاکنون بیش از ۱۷ نوع مختلف از آفلاتوکسین شناخته‌شده است که چهار نوع اصلی آن شامل G_1 ، G_2 ، B_1 و B_2 است. در بین این آفلاتوکسین‌ها، آفلاتوکسین B_1 از اهمیت بیشتری برخوردار است. این آفلاتوکسین عمدتاً متابولیت سمی قارچ‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* است که معمولاً در خوراکی‌ها مخصوصاً خوراکی‌هایی که بر پایه ذرت و گندم هستند، یافت می‌شود. میزان سمیت آفلاتوکسین‌ها به ترتیب $B_1 > G_1 > B_2 > G_2$ است (Fung and Clark, 2004, Paterson and Lima, 2010, Awuchi et al., 2022). عمده‌ترین مواد غذایی که توسط آفلاتوکسین B_1 آلوده می‌شوند شامل غلات، مغزی‌جات و میوه‌های خشک هستند که در مرحله ذخیره‌سازی آلوده می‌شوند (Mannani et al., 2023).

مغزی‌جات نقش ضروری در رژیم غذایی انسان داشته و در بین آن‌ها، پسته، بادام و گردو از پراهمیت‌ترین و پراستفاده‌ترین آن‌ها هستند. آجیل و خشکبار حاوی مواد مغذی فراوان (مانند پروتئین‌ها، مواد معدنی و ویتامین‌ها) و اثرات دارویی مفیدی (مانند ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) هستند. آجیل‌های خوراکی رایج عمدتاً شامل آجیل‌های درختی (به‌عنوان مثال، گردو، فندق و بادام) و مغزهای دانه‌ای (مانند بادام‌زمینی، تخمه آفتابگردان و تخمه کدو تنبل) هستند. بااین‌حال، این محصولات بسیار مستعد حمله قارچی هستند. رشد کپک و تولید مایکوتوکسین در میوه‌های خشک قبل از برداشت، در طول پردازش و ذخیره‌سازی اتفاق می‌افتد (Wu et al., 2018). حضور آفلاتوکسین‌ها در

فرآورده‌های گوشتی نشان‌دهنده آلودگی گوشت و ترکیبات به‌کاررفته در تولید آن‌ها به کپک‌های توکسیژنیک است که در فرآورده‌های دارای مغزی‌جات، میزان آن‌ها فراتر است و دلیل آن، فراهم بودن بستری جهت رشد کپک‌ها و در نتیجه پدیدار شدن آفاتوکسین‌ها است و در نهایت، ایجاد مشکلات بهداشت عمومی است (Elsayed *et al.*, 2018).

با توجه به مطالعات قبلی، میزان آفاتوکسین با پخت و پز خانگی، میکروویو یا حرارت اجاق گاز معمولی کاهش نمی‌یابد و آجیل و فرآورده‌های آن معمولاً تحت فرآیند حرارت بسیار جزئی قرار می‌گیرند. بنابراین داشتن یک سیستم نظارت کمی و ساده برای کنترل سطوح آفاتوکسین‌ها در مواد غذایی مهم است (Leong *et al.*, 2010). فرآورده‌های گوشتی به سوسپانسیونی پایدار حاصل از گوشت یک یا چند حیوان حلال گوشت گفته می‌شود که با سایر مواد در داخل پوشش‌هایی طبیعی و یا مصنوعی، در شرایط مناسب پر شده و پس از طی فرآیند حرارتی مناسب برای مصرف آماده می‌شود. این فرآورده‌های تولیدی در ایران عمدتاً از نوع حرارت‌دیده هستند. امروزه جهت بازارپسندی و افزایش ارزش غذایی، در ترکیبات آن‌ها از مغزی‌جات استفاده می‌کنند که در صورت رعایت مسائل فنی و بهداشتی، فاقد هرگونه عامل مخاطره‌آمیز هستند. سرانه مصرف فرآورده‌های گوشتی در اروپا ۶۴ و در ایران ۴ کیلوگرم در سال است، اما به دلیل سهولت تهیه آن‌ها، مصرف آن‌ها در سفره ایرانیان رو به افزایش است (Heidarzadi *et al.*, 2023). از آنجایی که در تولید کالباس‌ها از ترکیباتی استفاده می‌شود که استعداد رشد گونه‌های گسترده‌ای از کپک‌ها را دارند، حضور سویه‌های توکسین‌زا نیز دور از انتظار نیستند؛ بنابراین با توجه به مخاطرات ذکر شده، در خصوص آفاتوکسین B1 و اهمیت آن در سلامت انسان، پایش و ردیابی این سموم در مواد غذایی حائز اهمیت است که در همین راستا هدف از مطالعه سنجش میزان آفاتوکسین B1 در انواع کالباس‌های عرضه شده در شهرستان کرج به روش الیزا است.

مواد و روش‌ها

-نمونه‌گیری

در این پژوهش تعداد ۹۰ نمونه شامل ۴۵ نمونه کالباس بدون مغز و ۴۵ نمونه کالباس مغزدار (از ۳ برند و هر برند ۱۵ نمونه) در زمستان ۱۴۰۲ از انواع مختلف کالباس‌ها مانند پیرونی (۱۵ نمونه)، مارتادالا (۱۵ نمونه) و خشک (۱۵ نمونه) به صورت تصادفی که آجیل‌های به کار رفته در ترکیبات آن‌ها شامل پسته، فندق، تخم کدو، تخم آفتابگردان، دانه کنجد، دانه آفتابگردان و گردو بودند؛ از برندهای متفاوت موجود در فروشگاه‌های عرضه‌کننده فرآورده‌های گوشتی در شهرستان کرج (مرکز استان البرز واقع در ضلع شمالی کشور در دامنه جنوبی رشته کوه البرز) به صورت تصادفی نمونه‌گیری و جهت ردیابی آفاتوکسین B1 در دمای یخچال به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه‌ها در دستگاه استوماکر قرار داده شدند و به صورت همگن‌شده برای مراحل بعد آماده‌سازی شدند.

-آماده‌سازی نمونه

مقدار ۵۰ گرم از هر نمونه (فرآورده‌های گوشتی) همراه با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر به واسطه دستگاه استوماکر (Intersciences, France) همگن شده تا یک ترکیب یکنواخت به وجود آید. سپس ۱۰ گرم از آن ترکیب به دست

آمده برداشته و با ۵۰ میلی لیتر متانول ۳۳ درصد مخلوط شد. ترکیب حاصل به مدت ۲ دقیقه با حرکت دورانی دستگاه شیکر (Stuart, England) تکان داده شد. بعد از ۱۵ دقیقه مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن ۴۲ صاف و در پایان به نسبت ۱:۱۰ با متانول ۷۰ درصد رقیق شد (Mohammadi et al., 2021).

–جستجوی آفلاتوکسین B1 به روش الایزا

مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت (EuroProxima, Netherlands)، میزان آفلاتوکسین B1 در نمونه اندازه گیری شد؛ ابتدا ۵۰ میکرولیتر از محلول آفلاتوکسین B1 و نمونه های آماده سازی شده به حفرات استاندارد آفلاتوکسین در میکروپلیت اضافه شد (جهت افزایش دقت کار برای هر نمونه دو حفره در نظر گرفته شد). ۵۰ میکرولیتر محلول کوئژوگه شده با آنزیم به حفرات اضافه شده و سپس به مدت ۲ ساعت به دور از نور در درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس مایع موجود در حفرات میکروپلیت تخلیه شده و همه حفرات با بافر مخصوص شستشو گردید (عمل شستشو دوبار تکرار شد). ۵۰ میکرولیتر کروموژن به حفرات اضافه و پس از مخلوط نمودن به مدت ۳۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق در تاریکی نگهداری گردید. طی این مرحله رنگ آبی در نمونه ها ایجاد شد. غلظت رنگ با غلظت آفلاتوکسین در نمونه ها و استانداردها نسبت عکس دارند و در نهایتا با اضافه نمودن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده، در این مرحله رنگ آبی به زرد تبدیل شد. میزان جذب نمونه ها با قرائت کننده مخصوص الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. مقادیر بر حسب میکروگرم بر کیلوگرم گزارش شد. آزمون برای هر نمونه با دو بار تکرار انجام شد (Rahimi et al., 2023).

–آنالیزهای آماری

نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ برای محاسبات و ارزیابی داده ها که با استفاده از آزمون های آماری Independent sample t-test و ANOVA و تست Duncan برای مقایسه میانگین ها و از آزمون کای دو (Chi-Square) برای مقایسه درصد فراوانی ها انجام شد و نرم افزار اکسل برای رسم نمودارها به کار برده شد.

یافته ها

نتایج نشان داد از مجموع ۹۰ نمونه کالباس مغزدار و بدون مغز، ۴۷ نمونه (۵۲/۲۲ درصد) به آفلاتوکسین B1 آلوده بودند که بیشترین آلودگی در کالباس های مغز دار وجود داشت، به گونه ای که به ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی به آفلاتوکسین B1 مربوط به کالباس خشک مغزدار (۱۰۰ درصد)، کالباس پیرونی مغزدار (۹۳/۳۳ درصد) و کالباس مارتادلا مغز دار (۸۶/۶۶ درصد) و مجموعاً ۴۵ نمونه کالباس مغزدار (۹۳/۳۳ درصد) بود ($p < 0/01$). فراوانی آلودگی در کالباس های بدون مغز در کل ۵ نمونه از ۴۵ نمونه، ۱۱/۱۱ درصد بود که سهم کالباس مارتادلا ۲ نمونه (۱۳/۳۳ درصد)، کالباس پیرونی ۱ نمونه (۶/۶۶ درصد) و کالباس خشک ۲ نمونه (۱۳/۳۳ درصد) بود (جدول ۱). در آزمون آماری کای-دو درصد آلودگی در انواع مغزدار بالاتر از انواع بدون مغز بود ($p < 0/01$). ضمناً مقایسه میانگین ها با آزمون کای-دو در داخل گروه ها، نشان داد که درصد آلودگی در انواع کالباس های بدون مغز تفاوت معنی داری بین انواع کالباس های مارتادلا، پیرونی و خشک ندارد، اما نتایج این مقایسه در گروه کالباس های مغزدار معنی دار بود و شیوع آلودگی به طور معنی دار با به ترتیب در کالباس خشک، کالباس پیرونی و کالباس مارتادلا بود ($p < 0/01$).

جدول (۱) - توزیع فراوانی مطلق و نسبی شیوع آلودگی به آفلاتوکسین B1 در انواع کالباس‌های عرضه‌شده در شهرستان کرج

نوع کالباس	تعداد نمونه	کل موارد آلوده	محدوده آلودگی (میکروگرم در کیلوگرم)					تعداد
			≤۱	۱ - ۲	۲ - ۴	۴ - ۵	۵ <	
مارتادلا	۱۵	۲ (/۱۳/۳۳) ^A	۲ (/۱۳/۳۳)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	
پپرونی	۱۵	۱ (/۶/۶۶) ^A	۱ (/۶/۶۶)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	
بدون مغز خشک	۱۵	۲ (/۱۳/۳۳) ^A	۲ (/۱۳/۳۳)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	
جمع	۴۵	۵ (/۱۱/۱۱) ^G	۵ (/۱۱/۱۱)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	۰ (/۰)	
مارتادلا	۱۵	۱۳ (/۸۶/۶۶) ^{AB}	۵ (/۳۳/۳۳)	۱ (/۶/۶۶)	۲ (/۱۳/۳۳)	۲ (/۱۳/۳۳)	۳ (/۲۰)	
پپرونی	۱۵	۱۴ (/۹۳/۳۳) ^{BC}	۸ (/۵۳/۳۳)	۲ (/۱۳/۳۳)	۲ (/۱۳/۳۳)	۱ (/۶/۶۶)	۱ (/۶/۶۶)	
مغزدار خشک	۱۵	۱۵ (/۱۰۰) ^{CD}	۹ (/۶۰)	۱ (/۶/۶۶)	۲ (/۱۳/۳۳)	۱ (/۶/۶۶)	۲ (/۱۳/۳۳)	
جمع	۴۵	۴۲ (/۹۳/۳۳) ^E	۲۲ (/۴۸/۸۸)	۴ (/۸/۸۸)	۶ (/۱۳/۳۳)	۴ (/۸/۸۸)	۶ (/۱۳/۳۳)	
جمع کل	۹۰	۴۷ (/۵۲/۲۲) ^F	۲۷ (/۳۰)	۴ (/۴/۴۴)	۶ (/۶/۶۶)	۴ (/۴/۴۴)	۶ (/۶/۶۶)	

اعداد با حروف کوچک غیرمتشابه اختلاف معنی دار با یکدیگر دارند ($p < 0/01$).

اعداد با حروف بزرگ غیر متشابه، اختلاف معنی دار با یکدیگر دارند ($p < 0/01$).

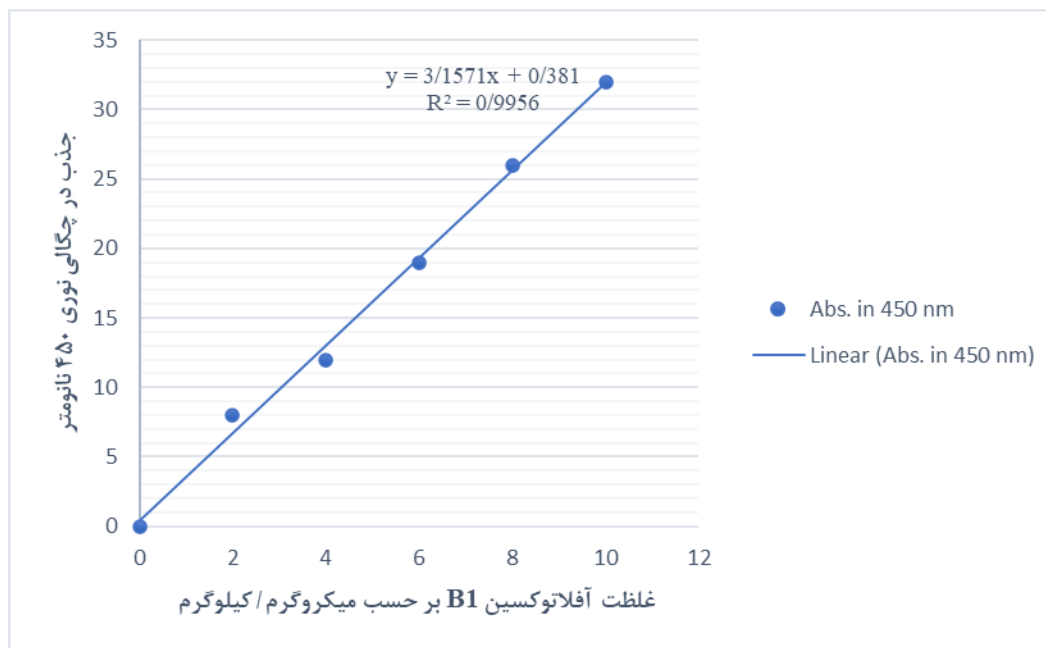
بر اساس جدول (۲) تفاوت معنی‌داری بین میانگین آفلاتوکسین در نمونه‌های مغزدار و بدون مغز دیده شد که میانگین در نمونه‌های مغزدار بالاتر بود. اما مقایسه میانگین‌ها با آزمون آنالیز واریانس در داخل گروه‌ها، در انواع کالباس‌های بدون مغز و مغزدار تفاوت معنی‌داری بین انواع کالباس‌های مارتادلا، پپرونی و خشک نشان نداد ($p < 0/01$).

جدول (۲) - میانگین میزان آلودگی به آفلاتوکسین B1 (میکروگرم در کیلوگرم) در انواع کالباس‌های عرضه‌شده در شهرستان کرج

نوع کالباس	انحراف معیار $\pm$ میانگین				استاندارد
	مارتادلا	پپرونی	خشک	جمع	
بدون مغز	۱/۳۵ $\pm$ ۰/۳۷ ^a	۰/۳۷ $\pm$ ۰/۰۹ ^a	۰/۸۴ $\pm$ ۰/۱۸ ^a	۰/۹۵ $\pm$ ۰/۲۱ ^a	
مغزدار	۳/۰۱ $\pm$ ۲/۴ ^b	۲/۱۵ $\pm$ ۱/۷۷ ^b	۲/۳۲ $\pm$ ۱/۸۷ ^b	۲/۵۳ $\pm$ ۲/۰۴ ^b	۱۰
جمع	۲/۸۵ $\pm$ ۱/۳۹	۱/۸۲ $\pm$ ۰/۹۸	۲/۰۵ $\pm$ ۱/۰۲	۲/۱۱ $\pm$ ۱/۱۲	

اعداد با حروف کوچک انگلیسی متفاوت، با ($p < 0/01$) اختلاف معنی دار آماری با یکدیگر دارند.

شکل (۱)، نمودار رگرسیون مربوط به تعیین میزان آفلاتوکسین B1 در نمونه کالباس را نشان می‌دهد.



شکل (۱) - نمودار استاندارد خطی کالیبراسیون الیزا

بحث و نتیجه گیری

آفلاتوکسین B1 قوی‌ترین فعالیت جهش‌زا و سرطان‌زا را در میان آفلاتوکسین‌ها نشان می‌دهد. به همین دلیل، آفلاتوکسین B1 به عنوان سرطان‌زای گروه ۱ انسانی توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان شناخته شده است (Martínez et al., 2023). میزان حداکثر آفلاتوکسین B1 مجاز در مواد غذایی مختلف در هر کشوری متفاوت است. مطابق استاندارد ۵۹۲۵ (تجدید نظر اول سال ۱۳۹۹) در وب‌سایت سازمان ملی استاندارد ایران، حداکثر میزان آفلاتوکسین B1 برای انواع مغزی‌جات و آجیل‌ها ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم است، که غلظت هیچ‌کدام از نمونه‌های پژوهش حاضر فراتر از استاندارد ایران نبودند (ISIRI, 5925/2020). در راستای مطالعه حاضر، پژوهشگران در مطالعه‌ای مشابه بر روی آلودگی فرآورده‌های گوشتی به آفلاتوکسین B1 نشان دادند که از مجموع ۴۱۰ نمونه، بیشترین میزان آلودگی در محدوده ۲ میکروگرم بر کیلوگرم بود، در حالی که بیشترین میزان آلودگی در مطالعه حاضر ۳۰ درصد نمونه‌ها آلودگی کمتر از ۱ (میکروگرم بر کیلوگرم) را داشتند (Pleadin et al., 2015). در مطالعه‌ای بر روی آلودگی آفلاتوکسین B1 در فرآورده‌های گوشتی گزارش دادند از مجموع ۹۰ نمونه، آفلاتوکسین B1 در ۱۰ درصد از نمونه‌ها یافت شد که متوسط آلودگی در محدوده ۳ میکروگرم بر کیلوگرم بودند، که با مطالعه حاضر مطابقتی ندارد. میزان آلودگی در محدوده ۲ تا ۴ میکروگرم بر کیلوگرم در پژوهش حاضر ۶/۶۶ درصد بود (Markov et al., 2013).

در مطالعه‌ای با هدف بررسی آلودگی به آفلاتوکسین B1 در فرآورده‌های گوشتی در ترکیه، گزارش دادند که در مجموع آفلاتوکسین B1 در ۵۰ درصد از نمونه‌ها یافت شد که نتایج با مطالعه حاضر مطابقت دارد (Cavus et al., 2018). در تحقیقی بر روی آلودگی فرآورده‌های گوشتی به آفلاتوکسین B1 در کرواسی گزارش دادند که از مجموع ۱۶۰ نمونه، ۸ درصد آلودگی به آفلاتوکسین در غلظت محدوده ۴/۵ تا ۳/۵ میکروگرم بر کیلوگرم بوده است، که با مطالعه حاضر مطابقت دارد (Zadravec et al., 2020).

محققین در مطالعه‌ای با هدف تعیین آلودگی فرآورده‌های گوشتی مرغ و گاو عرضه شده در عربستان سعودی به آفاتوکسین B1 گزارش دادند که از مجموع ۸۲ نمونه، ۳۷/۵ درصد نمونه‌ها به آفاتوکسین B1 آلوده بودند. غلظت آفاتوکسین B1 بین ۰/۳۰ تا ۵۲/۹۳ میکروگرم بر کیلوگرم و به‌طور میانگین $۱۲/۵۸ \pm ۶/۴$ میکروگرم بر کیلوگرم بودند. استاندارد مجاز آفاتوکسین B1 در عربستان سعودی، برای فرآورده‌های گوشتی ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم است که با توجه به نتایج یادشده ۱۰ درصد از نمونه‌ها، دارای آلودگی فراتر از استاندارد عربستان بودند که با نتایج مطالعه حاضر مطابقتی ندارد (Elzupir and Abdulkhair, 2020). مطابق نتایج پژوهشی در مصر روی ۱۲۰ نمونه از فرآورده‌های گوشتی شامل باسترما، سوسیس و گوشت چرخ‌کرده نشان داده شد که ۶ درصد نمونه‌ها به آفاتوکسین B1 آلوده بود در تحقیق حاضر میزان رخداد آفاتوکسین در فرآورده‌های گوشتی ۵۲/۲۲ درصد بود (Algammal et al., 2021). در مطالعه‌ای در مصر روی آلودگی فرآورده‌های گوشتی شامل باسترما و سوسیس به آفاتوکسین B1 گزارش شد که ۵۵ درصد از نمونه‌های مورد بررسی به آفاتوکسین آلوده بودند که بیشترین غلظت آفاتوکسین در محدوده ۰/۰۱ تا ۲ میکروگرم بر کیلوگرم بود که مطابق با نتایج حاصل از پژوهش حاضر است (Morshdy et al., 2023). در پژوهشی با هدف تعیین آلودگی به آفاتوکسین B1 در فرآورده‌های گوشتی عرضه‌شده در اهواز به روش الیزا گزارش دادند که ۴/۹ درصد از سوسیس‌ها و ۶/۳ درصد از همبرگرها به آفاتوکسین آلوده بودند که نتایج نامبرده پائین‌تر از نتایج مطالعه حاضر است (Maktabi et al., 2016). مطالعه‌ای روی آلودگی سوسیس و کالباس و گوشت چرخ‌کرده عرضه شده در مصر به آفاتوکسین نشان داد که آفاتوکسین B1 در ۳ نمونه کالباس (۸/۵۷ درصد) با میانگین آلودگی ۸ میکروگرم بر کیلوگرم ردیابی شد که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد (Elsayed et al., 2018). مطالعه‌ای در عراق، با هدف تشخیص وجود آفاتوکسین B1 در ۳۹ نمونه از برخی از غذاهای کنسرو شده (۶ نمونه گوشت گاو، ۴ نمونه گوشت مرغ، ۶ نمونه گوشت ماهی، ۵ نمونه قارچ و ۱۸ نمونه از انواع حبوبات) انجام شد. آفاتوکسین B1 در ۳۴ نمونه شناسایی شد و غلظت سم از ۵/۲ تا ۹/۷۷ میکروگرم بر کیلوگرم متغیر بود که مطابقتی با مطالعه حاضر ندارد (Hassan, 2017). پژوهشی در مصر با هدف تعیین آلودگی به آفاتوکسین B1 در سوسیس‌های عرضه‌شده گزارش دادند از مجموع ۸۰ نمونه، ۱۳ درصد از نمونه‌ها به آفاتوکسین آلوده بودند که با مطالعه حاضر همسویی ندارد (Abuzaid et al., 2020). نتایج مقایسه پژوهش حاضر با مطالعات پیشین نشان می‌دهد که شرایط غیربهداشتی و نامناسبی که گوشت و فرآورده‌های گوشتی در آن نگهداری و فرآوری می‌شوند، از نظر بهداشتی قابل قبول نیستند. همچنین اختلاف در وضعیت جغرافیایی محل‌های نمونه‌گیری، روش‌های اندازه‌گیری مختلف و خطای آزمایش‌گر از دیگر دلایل عدم مطابقت‌ها می‌توان ذکر کرد و برای به دست آوردن فرآورده‌های گوشتی سالم و ایمن، باید اصول شیوه‌های صحیح تولید و تجزیه و تحلیل خطر و نقطه کنترل بحرانی اتخاذ شود.

تولید آفاتوکسین B1 عمدتاً تحت تأثیر نوع و ترکیب فرآورده‌های گوشتی، افزودنی‌های خوراک همانند مغزی-جات، نوع محتویات مواد مغذی و مکانیسم فرآوری آن است. علاوه بر این، عوامل متعددی که بر رشد انواع مختلف کپک‌ها و سنتز آن‌ها برای مایکوتوکسین‌ها تأثیر می‌گذارند، شامل رطوبت، دما، محیط، فعالیت آب (aw)، pH، مواد مغذی، بار قارچی، وضعیت فیزیولوژیکی، ماهیت بستر و تعامل میکروبی است. مواد اولیه ممکن است در طول زمان ذخیره‌سازی با حضور انواع کپک‌های مستعد تولید آفاتوکسین آلوده شده باشند. بنابراین لازم است

حلقه‌های زنجیره تولید و ذخیره‌سازی، از جمله استفاده از خوراک دام‌های مزرعه‌ای آلوده کنترل شود. در همین راستا می‌توان برای جلوگیری از رخداد آفاتوکسین در گوشت، فراورده‌های گوشتی، مغزی‌جات و انواع آجیل‌ها، رعایت دمای کمتر از ۵ درجه سلسیوس، رطوبت کمتر از ۱۰ درصد، تامین مواد اولیه از مراکز معتبر را در دستور کار قرار داد.

فراورده‌های گوشتی به دلیل خوش طعم بودن، ارزش غذایی، قیمت پایین و روش‌های تهیه آسان، احتمالاً پرمصرف‌ترین محصولات غذایی هستند. بنابراین، ضروری است که مصرف آن‌ها بی‌خطر باشد. جلوگیری از رشد و حتی حضور آفاتوکسین‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا خطر سلامتی مصرف‌کنندگان توسط محصولات غذایی آلوده یک نگرانی بزرگ در بسیاری از کشورهای در حال توسعه است. در نتیجه، بهداشت عمومی، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، باید بر توسعه و اتخاذ دستورالعمل‌ها و مقررات مناسب و اجرای آن‌ها بدون توجه به هزینه‌ای که برای کسب‌وکارها دارد، تمرکز کند. در غیر این صورت بار بیماری‌های ناشی از غذا حتی از حد پیش‌بینی شده بیشتر خواهد شد و هزینه آن هم از نظر مالی و هم از نظر جانی بسیار زیاد خواهد بود. از مهم‌ترین دلایل عدم مطابقت پژوهش حاضر با سایر مطالعات می‌توان به شیوه نمونه‌گیری، دقت آزمایشگر، نوع کیت الیزا، دمای محیط نگهداری مغزی‌جات، دمای نگهداری فراورده‌های گوشتی ذکر کرد.

در مورد آلودگی فراورده‌های گوشتی، مشخص شده است که این مواد غذایی می‌توانند از سه مسیر آلوده شوند که شامل ادویه‌ها و مغزی‌جات آلوده و سایر مواد خام، کپک‌های تولیدکننده مایکوتوکسین موجود در سطح محصولات گوشتی و در اثر انتقال از حیوانات مزرعه‌ای که در معرض خوراک آلوده به آفاتوکسین بودند. مایکوتوکسین‌ها تمایل دارند در مواد خام و محصولات نهایی باقی بمانند و در بدن انسان انباشته شوند و در نتیجه مصرف مواد غذایی آلوده باعث آسیب‌های شدید سلامتی شوند. به منظور جلوگیری از آلودگی، تولید پیشرفته فراورده‌های گوشتی ایمن و باکیفیت باید شامل پیشگیری و کنترل تمام نقاط بحرانی باشد. تغییرات آب و هوایی به طور گسترده پذیرفته شده است و افزایش دما، افزایش بارندگی و سطح دی اکسید کربن و خشکسالی همگی تأثیر قابل توجهی بر امنیت غذایی خواهند داشت، اما عوامل دیگری از جمله فعل و انفعالات میکروبی، آلودگی به حشرات، آسیب فیزیکی، در دسترس بودن مواد مغذی و سطح دی اکسید کربن باعث ایجاد عفونت و آلودگی در مواد غذایی می‌شود. تغییر اقلیم بدون شک تأثیر بیشتری بر رشد و توزیع قارچ‌های مایکوتوکسیژنیک و مایکوتوکسین‌های تولید شده متعاقب آن دارد. شرایط گرم و خشک که استرس گیاه را تشدید می‌کند، آلودگی غذا و خوراک را با آفاتوکسین افزایش می‌دهد. کاهش میزان آفاتوکسین B1 به کمتر از حد استاندارد ممکن است به کیفیت ماده غذایی، بهداشت مکان نگهداری و همچنین میزان و نوع قارچ توکسین‌زا بستگی داشته باشد و این موارد بر تولید سم موثر باشند؛ یافته‌های مطالعه حاضر مبنی بر آلودگی ۵۵/۲۲ درصدی محصولات گوشتی به آفاتوکسین B1 نشان داد که درصد آلودگی این محصولات به آفاتوکسین‌ها بالا است، اما به دلیل پائین بودن میزان سم نسبت به استانداردهای ملی و بین‌المللی مشخص شد که مصرف چنین محصولاتی برای سلامت افراد مضر نبوده و سلامت مصرف‌کنندگان تحت تأثیر ترکیبات کارسینوژنیک آفاتوکسین B1 قرار نمی‌گیرد. بنابراین مطابق استاندارد ایران برای نظارت مداوم بر محصولات گوشتی، تحقیقات بیشتری هنوز مورد نیاز است. بنابراین اکیداً توصیه می‌شود که مقررات سختگیرانه‌تری وضع شود تا از افزایش آلودگی به این سموم جلوگیری شود. همچنین توضیه

می‌شود مصرف روزانه فرآورده‌های گوشتی، به‌ویژه در میان جوانان، کاهش یابد تا احتمال ابتلا به سرطان و کاهش یابد.

سیاسگزاری

بدین وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abuzaid, K. E. A., Shaltout, F., Salem. (2020). Microbial aspect of some processed meat products with special reference to aflatoxins. *Benha Veterinary Medical Journal*, 39(2): 24-28.
- Agammal, A. M., Elsayed, M. E., Hashem, H. R., Ramadan, H., Sheraba, N. S., Hetta, H. F., *et al.* (2021). Molecular and HPLC-based approaches for detection of aflatoxin B1 and ochratoxin A released from toxigenic *Aspergillus* species in processed meat. *BMC Microbiology*, 21(1): 1-10.
- Awuchi, C. G., Ondari, E. N., Nwozo, S., Odongo, G. A., Eseoghene, I. J., Twinomuhwezi, *et al.* (2022). Mycotoxins' toxicological mechanisms involving humans, livestock and their associated health concerns: a review. *Toxins*, 14 (3): 167-177.
- Cavus, S., Tornuk, F., Sarioglu, K. (2018). Determination of mold contamination and aflatoxin levels of the meat products/ingredients collected from Turkey market. *Journal of Food Safety*, 38,(5): 89-101.
- Chaitanya, M. V. N. L., Arora, S., Pal, R. S., Ali, H. S., and El Haj, B. M. (2024). Assessment of environmental pollutants for their toxicological effects of human and animal health. *Organic micropollutants in aquatic and terrestrial environments*. Springer 9(12): 68-75.
- Dellafiora, L., and Dall'Asta, C. (2017) Forthcoming challenges in mycotoxins toxicology research for safer food—a need for multi-omics approach. *Toxins*, 9 (1): 18-27.
- Elsayed, M. E., Agammal, A. M., El-Diasty, E. M., and Abouelmaatti, R. R. (2018). Prevalence of *Aspergillus* spp and Aflatoxins in luncheon, minced meat and sausage. *Global Animal Science Journal*, 6(1): 17-23.
- Elzupir, A. O., and Abdulkhair, B. Y. (2020). Health risk from aflatoxins in processed meat products in Riyadh, KSA. *Toxicon*, 181(1): 1-5.
- Fung, F. and Clark, R. F. (2004). Health effects of mycotoxins: a toxicological overview. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 42(7): 217-234.
- Hassan, F. F. (2017). Detection of aflatoxin b1 in some canned foods and reduction of toxin by ultraviolet radiation. *Iraqi Journal of Science*, 58(42):2343-2349.
- Heidarzadi, M. A., Ayazi, N., Vahed dehkordi, N., Karimi, M., Ahmadi, S. K. and Hosseini nasab, S. E. (2023). Prevalence of contamination of sandwiches with pathogenic microorganisms and antibiotic resistance of isolates in Kermanshah city, Iran. *Food Hygiene*, 13(51): 53-66. [In persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (ISIRI), 2020. Maximum validity of mycotoxins in human food. 2nd Revision, ISIRI No. 5925. [In Persian]
- Juan, C., Zinedine, A., Molto, J. C., Idrissi, L., and Manes, J. (2008). Aflatoxins levels in dried fruits and nuts from Rabat-Salé area, Morocco. *Food Control*, 19(9): 849-853.
- Lee, H. B., Patriarca, A., and Magan, N. (2015). *Alternaria* in food: ecophysiology, mycotoxin production and toxicology. *Mycobiology*, 43(2): 93-106.
- Lee, Y., Lemmetty, J. M., Nihtilä, H., Koivula, H., Samandoulougou, S., Sawadogo-Lingani, H., *et al.* (2024). Efficacy of Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 Adsorption by Maize, Wheat, and Oat Bran. *Toxins*, 16(7): 288-300.

- Leong, Y. H., Ismail, N., Latif, A. A., and Ahmad, R. (2010). Aflatoxin occurrence in nuts and commercial nutty products in Malaysia. *Food Control*, 21(3): 334-338.
- Maktabi, S., Fazlara, A., Ghorbanpoor, M., Talayol, G., and Siavashi, M. (2016). Measurement and assessment of aflatoxin B1 and its producing molds in Iranian sausages and burgers. *Journal of Kermanshah University of Medical Science*, 20(2): 74-78.
- Mannani, N., El Boujamaai, M., Sifou, A., Bennani, M., El Adlouni, C., and Zinedine, A. (2023). Aflatoxins and Ochratoxin A in dried fruits from Morocco: Monitoring, regulatory aspects, and exposure assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 145, 105503.
- Markov, K., Pleadin, J., Bevardi, M., Vahčić, N., Sokolić-Mihalak, D., and Frece, J. (2013). Natural occurrence of aflatoxin B1, ochratoxin A and citrinin in Croatian fermented meat products. *Food Control*, 34(2): 312-317.
- Martínez, J., Hernández-Rodríguez, M., Méndez-Albores, A., Téllez-Isaías, G., Mera Jiménez, E., Nicolás-Vázquez, M. I., *et al.* (2023). Computational studies of aflatoxin B1 (AFB1): A review. *Toxins*, 15(2): 135-145.
- Mohammadi, S., Ghahremani, E., Dehestaniathar, S., Zandi, S., Zakariaei, A., Mohammadi, M., and Karimi, Z. (2021). Determination of aflatoxin B1 concentration in poultry feed in the poultry farms of Sanandaj using ELISA method. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 25(6): 49-56.
- Morshdy, A. E. M., Abdelhameed, R. H., Tharwat, A. E., Darwish, W., and Ahmed, N. A. (2023).. Content and Health Risk Assessment of Total Aflatoxins in the Retailed Beef Luncheon, Sausage, and Pasterma in Zagazig City, Egypt. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 13(3): 479-482.
- Paterson, R. R., and Lima, N. (2010). Toxicology of mycotoxins. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology: Volume 2: Clinical Toxicology*, 31-63.
- Pleadin, J., Staver, M. M., Vahčić, N., Kovačević, D., Milone, S., Saftić, L., and Scortichini, G. (2015). Survey of aflatoxin B1 and ochratoxin A occurrence in traditional meat products coming from Croatian households and markets. *Food Control*, 52, 71-77.
- Rahimi, E., Heidarzadi, M. A. and Vahed Dehkordi, N. (2023). Aflatoxin B1 concentrations in corn flour and wheat flour supplied in Shahrekord province using ELISA method in 2022. *Iranian Journal of Health and Environment*, 16 (3): 433-444. [In Persian]
- Tripathy, S. K., Dash, M., Behera, S. K., Ithape, D. M., and Maharana, M. (2017). Nutrient rich quality rice-a journey to healthy life. *Advances in Plants & Agriculture Research*, 7(5): 364-367.
- Wu, Q., Xie, L., and Xu, H. (2018). Determination of toxigenic fungi and aflatoxins in nuts and dried fruits using imaging and spectroscopic techniques. *Food Chemistry*, 252(9): 228-242.
- Zadravec, M., Vahčić, N., Brnić, D., Markov, K., Frece, J., Beck, R., *et al.* (2020). A study of surface moulds and mycotoxins in Croatian traditional dry-cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 317, 108459.

Measuring the amount of aflatoxin B1 in sausages sold in Karaj county by the ELISA method

Aflatoxin contamination in meat products

Soltanzadeh, S¹, Hashemi, S.M.^{2*}

1- Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2- Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

*Corresponding author: majidhashemi54@gmail.com

Abstract

Mycotoxins have different types of toxic and carcinogenic effects on animal and human health. Aflatoxin B1 is the secondary metabolite of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, whose presence in food can endanger consumers' health. In this regard, this study aimed to investigate and compare the amount of aflatoxin B1 in all kinds of persian sausages (Kalbas) sold in Karaj county by the ELISA method. In this research, 90 persian sausages samples, including persian sausages with nuts and persian sausages without nuts, were randomly collected from the supply centers of this product in Karaj county in the winter of 2022 and sent to the food hygiene laboratory under hygienic and refrigerated conditions to check the amount of aflatoxin B1 using the ELISA method. Out of a total of 90 samples of persian sausages with nuts and persian sausages without nuts, 47 samples (52.22%) were contaminated with aflatoxin B1, which was the highest level of contamination in persian sausages with nuts. In such a way that the highest and lowest levels of contamination were related to aflatoxin B1, respectively. It was dry persian sausages with nuts (100%), pepperoni with nuts (93.33%), and martadella with nuts (86.66%). Nevertheless, none of the sausage samples had contamination beyond the Iranian standard. The highest level of contamination with aflatoxin B1 (55.85%) was in the range of less than 10 µg/kg. According to the obtained results, the use of these products is not considered dangerous for consumers. However, it is necessary to apply stricter guidelines by competent authorities in order to reduce the contamination with aflatoxin B1 as much as possible, so that the health of consumers is not endangered.

Conflict of interest: None declared

Keywords: Aflatoxin B1, Sausage, Meat products, ELISA