اندازه گیری میزان آفلاتوکسینB_1 درآرد های نانوایی شهر قم

مژگان سقازاده *[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 ا...(عج) ، تهران ، ایران ،

۴ مرکز تحقیقات میکروبشناسی کاربردی ، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...(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 B_1 یکی از قوی ترین هپاتوکارسینوژن های شناخته شده در طبیعت است. آن ها دارای اثرات کارسینوژنیک، موتاژنیک و تراتوژنیک هستند. آرد هایی که تحت شرایط نامناسب دمایی و رطوبتی طی رشد، برداشت و انبارداری قرار می گیرند، نسبت به آلودگی با آفلاتوکسین B_1 مستعد هستند.. بنابراین بهداشت آرد از لحاظ میکروبی، برای مصرف کنندگان، حائز اهمیت است. هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی آرد نانوایی های شهر قم به سم آفلاتوکسینB_1 بوده است.

روش کار: در این مطالعه تجربی در تابستان سال ۹۳ تعداد ۸۴ نمونه آرد گندم از ۸۴ نانوایی در شهر قم به طور تصادفی جمع آوری و میزان آفلاتوکسینB_1 ، درآن ها با استفاده از روش الایزای رقابتی اندازه گیری شد. همچنین اطلاعاتی در مورد نوع آردمصرفی 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 B_1 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 B_1 در آردهای مورد استفاده برای تهیه نان بیش از حد مجاز بود، لذا نیاز به کنترل و ارزیابی مستمر میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد مصرفی نانوایی ها ضروری بنظر می رسد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسینB_1 ، آرد گندم، نان، الایزا

مقدمه

واژه مایکوتوکسین از دولغت یونانی Mykes به معنای قارچ وToxicum 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 امینه، 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 شد ه 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 حاضر۴۰۰ نوع مایکوتوکسین مختلف شناسایی شده‌اند که از نظر ساختمانی متفاوتند در میان ۴۰۰ مایکوتوکسین شناخته شده، آفلا توکسین 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 پیچیده‌ای هستند که ساختمان آن ها از حلقوی منفرد با وزن مولکولی۵۰ دالتون، تا گروه‌های۶ و۸ حلقه‌ای با وزن مولکولی بیش از۵۰۰ 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(6,) . 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» درلغت 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 B_1،B_2، G_1،G_2،M_1 اشاره

نمود (۸ ؛ ۹). آفلاتوکسین B_1 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، تراتوژنیک 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 درسلول های پستانداران می گردد(۱۳). جلوگیری از تشکیل آفلاتوکسین ها قبل از برداشت محصول مشکل می باشد. بنابراین وجود آفلاتوکسین ها درغذاها 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 می‌باشد. اختلاف اصل تولید سم بین دو گونه *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازتیکوس* در این است که معمولاً *پارازیتیکوس* نوع G را به خوبی نوع B تولید می‌کند. تحقیقات اخیر نشان داده که آفلاتوکسین‌ها توسط نوعی *آسپرژیلوس* به نام *آسپرژیلوس نومیوس* نیز تولید می‌شود (۱۶). آسپرژیلوس نومیوس بسیار شبیه *آسپرژیلوس فلاووس* است قادر به تولید آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 و G_1 و G_2 می‌باشد (۱۷).

روش‌هایی 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 می‌تواند باعث کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 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 از۲۰ درجه سانتیگراد باشد و توصیه می‌گردد که از آردها با کیفیت میکروبی قابل قبول به خصوص آردهایی که تعداد اسپور باکتری‌های مقاوم به حرارت آن ها کم باشد استفاده شود (۱۹،۲۰).

به طور کلی در سال۱۹۹۶ ، اتحادیه اروپا(EC) میزان مجاز آفلاتوکسین در دانه‌های 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 B_1 و چهار نوع آفلاتوکسین طبیعی نباید به ترتیب از۲ و۴ 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 ppb ۲۰ (میکروگرم در کیلوگرم) و در شیر خامppb ۰/۵(میکروگرم در کیلوگرم) اعلام نموده است (۲۱).

در ایران حد مجاز آفلاتوکسینB_1 در گندم و ذرت ۵ میکروگرم در کیلو گرم 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 B_1 موجود در نمونه‌ها، با استفاده از تکنیک الایزا که در آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده پزشکی بقیه الله انجام گرفت.

۱. نمونه گیری

در طول انجام این پژوهش به طور تصادفی به۸۴ نانوایی در نقاط مختلف شهر قم جهت جمع آوری نمونه های آرد مراجعه شد نمونه‌های آرد مستقیماً از خود نانوایی هاخریداری 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^{o}C ۶-۴ 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. برای۸۴ 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 ^{o}C ۶-۴ برای آزمایشات بعدی نگهداری شد.

۳. اندازه گیری میزان آفلاتوکسین B_1

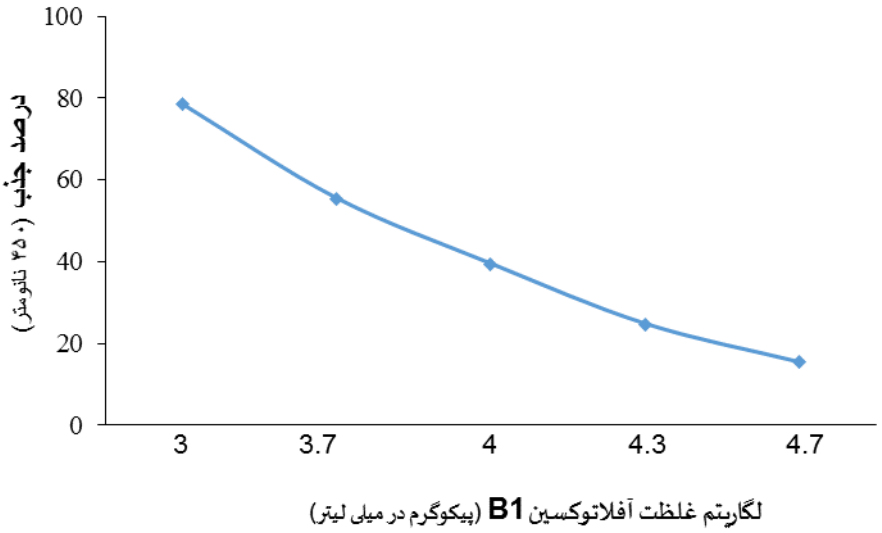
برای اندازه گیری سم در نمونه‌ها از یک روش الایزای رقابتی استفاده شد. برای این کار کیت الایزا Aflatoxin B_1 ساخت کمپانی R-Biopharm آلمان به کار رفت و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. به این منظور ۵۰ میکرولیتر از هر استاندارد و نمونه های آماده سازی شده به کمک سمپلر به حفره های میکروپلیت اضافه شد(برای هر استاندارد و نمونه سرسمپلر جداگانه مورد استفاده قرار گرفت). ۵۰ میکرولیتر آنزیم کانژوگیت و ۵۰ میکرولیتر

محلول آنتی بادی ضد آفلاتوکسینB_1 به حفره های میکروپلیت اضافه شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه به دور از نورمستقیم 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 کروموژن به هر حفره اضافه شد و میکروپلیت به مدت ۱۵ دقیقه دردمای 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 الایزا 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 آفلاتوکسینB_1 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.

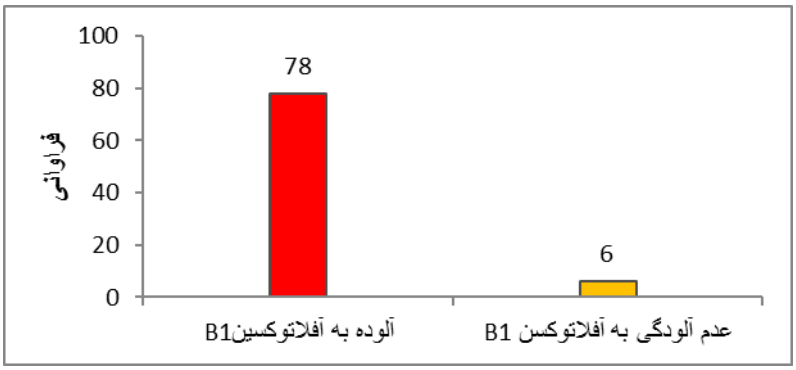
نتایج:

نمودار ۱ منحنی استاندارد تهیه شده برای اندازه گیری آفلاتوکسینB_1 در آرد نانوایی ها را نشان می‌دهد. قرار دادن لگاریتم غلظت نمونه‌های استاندارد تعبیه شده در کیت، در مقابل میانگین درصد جذب۴۵۰ نانومتر، همواره یک منحنی با ضریب هم بستگی بیش از۰/۹۹ بدست می‌آورد، که به عنوان منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری مقدار سم موجود در نمونه-های آرد نانوایی 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 آفلاتوکسینB_1 آلوده بودند میانگین میزان سم آفلاتوکسینB_1 در نمونه‌های آرد ۵/۹ میکروگرم در کیلوگرم با انحراف معیار۲/۸۴، تعیین گردید. بیشترین میزان سم آفلاتوکسینB_1، ۱۲/۶ میکروگرم در کیلوگرم کمترین میزان سم آفلاتوکسینB_1، ۰ میکروگرم در کیلو گرم تعیین گردید.



نمودار ۲. فراوانی نمونه ها بر اساس آلودگی به آفلاتوکسینB_1

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.

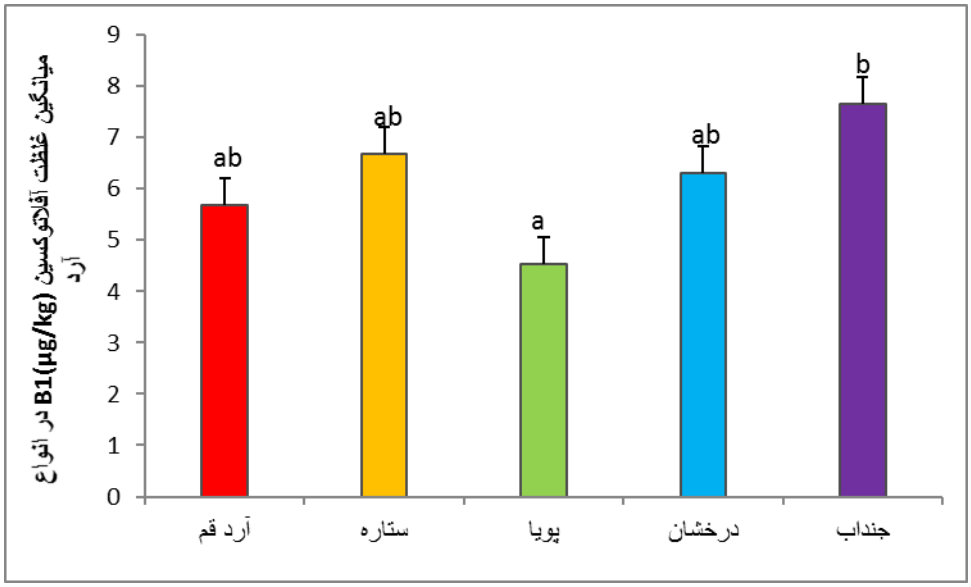
جدول ۱. میانگین غلظت آفلاتوکسینB_1 (µg/kg) در انواع نان

میانگین غلظت آفلاتوکسینB_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 B_1 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 B_1 (µg/kg) در انواع آرد مصرفی

میانگین غلظت آفلاتوکسینB_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

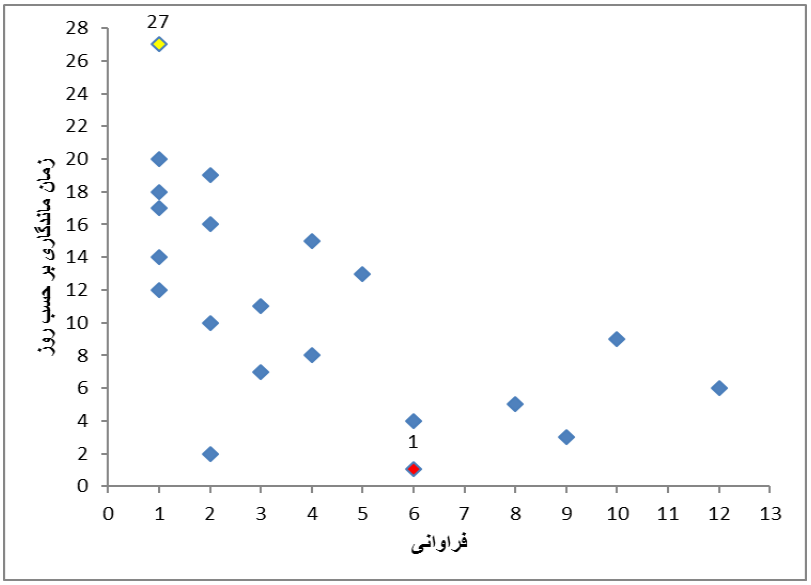


نمودار ۳. میانگین غلظت آفلاتوکسین B_1 در انواع آردها

میانگین زمان ماندگاری در نانوایی 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 آفلاتوکسینB_1 همبستگی وجود ندارد.

جدول ۳. میانگین زمان ماندگاری نمونه ها در نانوایی ها

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



نمودار ۴. فراوانی نمونه ها بر اساس میزان سم آفلاتوکسینB_1 بر حسب زمان ماندگاری

بحث و نتیجه گیری:

در این مطالعه ما به بررسی میزان سم آفلاتوکسین B_1 در آرد مصرفی نانوایی ها در شهر قم پرداختیم. زیرا که آردگندم ماده اصلی درتهیه نان است،

آلودگی گندم و آرد گندم به آفلاتوکسین در بررسی‌های 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 B_1 آلودگی داشتند که ۶۰/۷ ٪ دارای آلودگی بیش از حد مجاز تعیین شده توسط ایران (۵ppb) و اتحادیه اروپا(۲ppb) بود. و طیف این آلودگیppb ۱۲/۶-۰/۰ (میانگین ۵/۹) بود.

در حالیکه گزارشات مختلفی که در مورد شیوع آلودگی گندم و آرد گندم به آفلاتوکسین B_1 وجود دارد نتایج متفاوتی حاصل شده است، از جمله در در سال ۱۳۹۱ نسرین بیطرفان قمی در بررسی میزان آفلاتوکسینB_1 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، آردغلات و نشاسته آلودگی نمونه ها ۶۴ درصد بود (۲۵). در بررسی که توسط آیدین و همکاران درسال ۲۰۰۸، بر روی ۱۰۰ نمونه آرد گندم در ترکیه انجام شد،۲۰ درصد نمونه ها آلوده بودند (۲۶). ودربررسی که در سال ۲۰۱۰ توسط Cristina و همکاران برروی ۵۶ نمونه غلات (۲۵نمونه ذرت، ۱۲نمونه گندم، ۱۰نمونه جو، ۹ نمونه جوی دوسر) در جنوب شرقی رومانی انجام گرفت آفلاتوکسین B_1 در ۲۰٪، ۱۶/۶۶٪، ۲۲٪ از نمونه های ذرت،گندم و جو شناسایی شد (۲۷). Giray و همکاران درسال ۲۰۰۷،بر روی ۴۱ نمونه دانه گندم میزان آلودگی ۴۲٪ گزارش کردند (۲۸). در بررسی Ayalew و همکاران در سال ۲۰۰۶ در اتیوپی آفلاتوکسین B_1 در ۸/۸٪ از ۳۵۲ نمونه غلات و ۴/۲ ٪ از ۱۲۰ نمونه گندم تعیین کردند (۲۹). درسال ۲۰۰۶ در هند Toteja و همکاران بر روی ۱۶۴۶ نمونه دانه گندم میزان آلودگی ۵۶/۳ ٪ بود (۳۰)، درسال ۲۰۰۲ Escobar و همکاران نیز در کشور کوبا مشخص نمودند که ۲۵٪ از نمونه های گندم آلوده به آفلاتوکسین B_1 بودند(۳۱).درمطالعه ای که توسط هدایتی و همکاران در سال ۱۳۸۱ بر روی ۱۱۸ نمونه گندم در انبارهای مازندران انجام شد، آفلاتوکسین B_1 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 B_1 آلوده بودند (۳۳). ویلا و مرکاکی درسال ۲۰۰۹ به بررسی میزان سم آفلاتوکسین B_1 در۵۵ 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 B_1 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 B_1 یافتند (۳۵). در بررسی Tam و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی ۳۴۹ نمونه غلات صبحانه و غلات کودکان، آفلاتوکسین B_1 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 B_1 در ۸/۸۸ درصد از نمونه های ذرت شناسایی شد (۳۷). در سال ۱۳۹۰ دکترکیوان کوهیان در بررسی میزان آفلاتوکسین B_1 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 2000، 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 B_1 نقشی ندارد. میانگین مدت زمان ماندگاری آرد ۸ روز با انحراف معیار۵/۲۴ 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 B_1 آلوده هستند، وجود آفلاتوکسین حتی زمانی که میزان مصرف کشنده نیست، بطور جدی باعث آسیب رساندن به سلامت می شود. ازاین رو نیازبه کنترل و ارزیابی مستمر میزان آفلاتوکسین در مواد او لیه 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.C*ritical review in food science and nutrition*, (1991) **30(3)**:403-43.

2- Ismair 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; contaminats and additivies 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. Funadamentals 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 Coference 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 B_1 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 M_1 residues in milk utilizing hydrated sodiumcalcium alumino-silicate (abs); Toxicologist; 10, p: 163.

۲۲- علامه ع.، رزاقی م. ۱۳۸۰، مایکوتوکسین‌ها، 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; Agriculature 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 B_1 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 B_1 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., Regueiro O. S; 2002; Determination of aflatoxin B_1 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؛ دوره۹، بهار، شماره۲۴، صفحات۶۱-,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 B_1 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 B_1, B_2, G_1 and G_2; 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 B_1 و M_1 در تعدادی از مواد غذایی موجود در انبارهای مواد غذایی یگان های نراجا در تهران در سال ۱۳۹۰، فصلنامه پرستار وپزشک 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.