



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

مقاله پژوهشی

## تعیین میزان آلودگی مایکوتوکسین‌ها در گندم‌های وارداتی به استان مازندران به کمک کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

رضا فرهنگدفر<sup>۱\*</sup>، سلیمه رشیدایی ابندانسری<sup>۲</sup>، الهه مقصدولوا<sup>۱</sup>، مریم اثنی عشری<sup>۱</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و مهندسی و علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران

### اطلاعات مقاله:

### چکیده

زمینه و هدف: گندم به دلیل تامین بخش اعظم آردهای مورد استفاده برای تهیه نان در اغلب جوامع از جمله ایران، یکی از مهمترین غلات به شمار می‌رود. امکان آلودگی گندم به مایکوتوکسین‌ها، بسته به شرایط مختلف تولید و نگهداری وجود دارد. با توجه به سرطان‌زایی و جهش‌زا بودن مایکوتوکسین‌ها نظارت بر میزان آلودگی در گندم‌های وارداتی و جلوگیری از ورود گندم با کیفیت پایین به زنجیره غذایی امری ضروری است. بنابراین مطالعه حاضر به منظور تعیین آلودگی گندم‌های وارداتی به استان مازندران انجام شد.

روش بررسی: در این تحقیق، نمونه‌های گندم وارداتی از کشورهای حوزه دریای خزر از نظر میزان رطوبت و مایکوتوکسین‌ها (اکراتوکسین A، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول) مورد ارزیابی قرار گرفتند. آلودگی مایکوتوکسین‌ها به روش HPLC از طریق خالص‌سازی با ستون ایمونوآفینیتی برای اکراتوکسین A و زیرالنون، و ستون فاز جامد برای دئوکسی‌نیوالنول انجام شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین اکراتوکسین A، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول در گندم‌های وارداتی به ترتیب ۲/۲۴، ۱۳۳/۵۰ و ۱۸۱/۶۰ ng/g بودند.

نتیجه‌گیری: همه نمونه‌ها از نظر میزان مایکوتوکسین‌ها بر طبق حدود مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران در حد قابل قبول برای مصرف بودند. از طرف دیگر، ارتباط مستقیمی بین میزان دئوکسی‌نیوالنول با میزان رطوبت نمونه‌ها (۰/۰۹۲-) مشاهده نشد و همبستگی بین رطوبت با اکراتوکسین A و زیرالنون به ترتیب ۰/۱۰۴ و ۰/۱۶۸ بود.

۹۶/۰۹/۱۴

تاریخ دریافت:

۹۶/۱۲/۰۲

تاریخ ویرایش:

۹۶/۱۲/۰۶

تاریخ پذیرش:

۹۷/۰۳/۳۰

تاریخ انتشار:

واژگان کلیدی: مایکوتوکسین، اکراتوکسین A، دئوکسی‌نیوالنول، زیرالنون، گندم

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

r.farahmandfar@sanru.ac.ir

## مقدمه

گندم (*Triticum aestivum*) به دلیل خواص تغذیه‌ای آن، یکی از پرمصرف‌ترین غلات در سراسر جهان است. سازمان خوار و بار جهانی (FAO) سرانه مصرف جهانی گندم را تقریباً ۶۶ kg به ازای هر نفر در سال تخمین زده است (۱). در ایران براساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، در سال زراعی ۹۳-۹۴، سطح برداشت گندم در کل کشور حدود ۵/۷ میلیون هکتار برآورد شده که معادل ۵۰/۲۴ درصد کل سطح برداشت محصولات زراعی و ۷۱/۸۶ درصد از کل سطح برداشت غلات است. میزان تولید گندم کشور ۱۱/۵ میلیون تن برآورد شده است که معادل ۱۴/۹۶ درصد از کل تولید محصولات زراعی و ۶۳/۱۷ درصد از تولید غلات کشور است (۲). با توجه به سطوح بالای مصرف گندم در داخل کشور و تاکید بر کیفیت تولید آن، بخشی از نیاز کشور از طریق واردات این غله تامین می‌شود. گندم غنی از کربوهیدرات، پروتئین و سایر ترکیبات مناسب تغذیه‌ای است بنابراین بسته به شرایط مختلف محیطی در طول مراحل تولید و نگهداری ممکن است دچار حملات قارچی و تجمع مایکوتوکسین‌ها در آن گردد که یکی از مهمترین پارامترهای کیفیت گندم خوراکی است. مایکوتوکسین‌ها، به عنوان متابولیت‌های سمی قارچ‌ها، از مهمترین آلاینده‌های مواد غذایی بوده که سبب کاهش ارزش تغذیه‌ای محصول غذایی شده و خطری جدی برای سلامت انسان و حیوان به شمار می‌آیند (۳-۵). علاوه بر این، مایکوتوکسین‌ها بر عملکرد فرآوری گندم نیز آثار مخربی وارد کرده و زیان‌های اقتصادی قابل توجهی را در پی دارند زیرا تولیدات گیاهی و دامی را کاهش می‌دهند (۱، ۶). تولید مایکوتوکسین‌ها به شدت تحت تاثیر شرایط آب و هوایی، رطوبت، درجه حرارت و ریزمغذی‌های قابل دسترس در مراحل مختلف رشد به‌ویژه مرحله گلدهی گندم است (۳، ۴). همچنین، عوامل استرس‌زا نظیر صدمات ناشی از حشرات و کمبود آب و نیز عوامل تکنولوژیکی نظیر خاک کشت، کود نیتروژنی، استفاده از قارچ‌کش‌ها، تناوب کشت و ژنوتیپ گیاه میزبان (ارقام مقاوم) بر رشد گونه‌ها قارچی و تولید مایکوتوکسین‌ها در غلات به ویژه گندم موثر است (۳، ۴، ۶، ۷).

به‌طور کلی قارچ‌های غلات را می‌توان به دو گروه قارچ‌های مزرعه‌ای و قارچ‌های انباری طبقه‌بندی کرد. جنس‌های *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم* قارچ‌های معمول انباری بوده که در مراحل مختلف حمل و نقل، خشک کردن، انبار کردن یا بسته‌بندی نامناسب بر روی محصول ظاهر می‌شوند (۴، ۷). این گونه‌ها، مایکوتوکسین‌های سرطان‌زا نظیر آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین A (OTA) را تولید می‌کنند. OTA، مایکوتوکسین شایع تولید شده در محصولاتی است که به‌طور نامناسبی ذخیره می‌شوند. OTA دارای اثر نفروتوکسیک بوده و احتمالاً عامل اصلی نفروپاتی آندمیک بالکان در انسان و تومورهای دستگاه ادراری است (۸، ۹).

در طول رشد گندم در مزرعه یا در حین برداشت، آلودگی توسط گونه‌ها فوزاریوم روی می‌دهد. این گونه‌ها، توکسین‌های استروژنیک را تولید کرده که از نظر ساختاری به گروه تریکوتسن‌ها تعلق دارند. در آسیا شایع‌ترین مایکوتوکسین موجود در گندم زیرالنون (ZEN) بوده که به سرعت از طریق دستگاه گوارش جذب شده و نسبتاً سریع در مدفوع، ادرار و به‌طور جزئی در شیر دفع می‌گردد. این سم و مشتقات آن جزء دسته مواد شیمیایی مختل‌کننده غدد درون‌ریز بوده و عوارض جانبی غالب آنها، تغییر در دستگاه تناسلی، افزایش حجم رحم، کاهش باروری، تغییرات در سطوح سرمی پروژسترون و استرادیول است (۱۰). *Deoxynivalenol (DON)* به گروه توکسین‌های تریکوتسن متعلق بوده که به دلیل بروز استفراغ پس از مصرف به‌عنوان وومی توکسین (*Vomitoxin*) نیز شناخته شده است (۱۱، ۱۲). این سم ایمونوتوکسیک بوده و از طریق تغییرات در سطح کروموزوم‌ها و سلول‌ها ممکن است سبب ایجاد سرطان در پستانداران گردد. مسمومیت شدید با سموم فوزاریوم به دلیل وجود یک حلقه اپوکسی بسیار واکنش‌پذیر در ساختار آنها است (۴، ۱۳). DON و ZEN در مقابل فرایندهای تکنولوژیکی از جمله حرارت، مقاوم بوده، بنابراین مقادیر بالای این سموم در دانه‌های گندم برای تولیدکنندگان مواد غذایی مسئله قابل توجهی است (۱۲، ۱۴). به دلیل این که گندم‌های

از نمونه‌های گندم آسیاب شده برای تعیین غلظت هر یک از مایکوتوکسین‌های OTA، ZEN و DON طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲۳۸ "غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری اوکراتوکسین A به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوفینیتی، روش آزمون"، ۹۲۳۹ "غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری ZEN به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون ایمونوفینیتی، روش آزمون" و ۱۰۲۱۵ "غلات و فرآورده‌های آن، اندازه‌گیری دئوکسی نیوالنول به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص‌سازی با ستون فاز جامد، روش آزمون" توزین شد (۱۸-۱۶).

### روش آزمون

استخراج مایکوتوکسین‌ها از نمونه‌های مورد آزمون با استفاده از حلال متانول: آب (درجه ۳) با نسبت ۲:۸ انجام شد. مایکوتوکسین به دست آمده سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و تا غلظت معینی با آب مقطر رقیق گردید. سپس از ستون ایمونوفینیتی دارای آنتی‌بادی‌های ویژه با سرعت یک قطره در ثانیه عبور داده شد. بدین ترتیب مایکوتوکسین متصل شده به آنتی‌بادی‌های درون ستون متصل گردید. مایکوتوکسین متصل شده به آنتی‌بادی درون ستون توسط عبور حلال شستشو (مخلوط متانول: استونیتریل: آب درجه ۳ با نسبت ۱:۳) از داخل ستون شسته و وارد محفظه جمع‌آوری شده سپس با آب رقیق گردید. با استفاده از محلول‌های استاندارد اختصاصی هر مایکوتوکسین، محلول‌های استاندارد کالیبراسیون تهیه شد. منحنی کالیبراسیون با تزریق غلظت‌های معینی از محلول‌های استاندارد مایکوتوکسین مورد نظر به دستگاه HPLC ترسیم گردید. تزریق، جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار مایکوتوکسین با روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به ترتیب با استفاده از ستون فاز معکوس، مشتق‌ساز و دتکتور فلوروسانس و از طریق مقایسه سطح زیر منحنی استاندارد با نمونه مجهول با احتساب ضریب رقت بر حسب ng/g محاسبه شد.

وارداتی قبل از مصرف مدتی در انبارها نگهداری می‌شوند و با توجه به آب و هوای مرطوب استان مازندران که شرایط مناسبی را برای توسعه قارچی فراهم می‌نماید، در صورت عدم رعایت کنترل شرایط مناسب نگهداری و حمل و نقل، آلودگی مایکوتوکسین‌ها را به دنبال خواهد داشت.

بنابراین، هدف از این تحقیق بررسی میزان آلودگی به مایکوتوکسین‌ها شامل OTA، ZEN و DON در نمونه‌های گندم وارداتی از کشورهای حوزه دریای خزر به استان مازندران به‌عنوان یکی از اقلام پرمصرف در صنایع غذایی و به‌ویژه تامین‌کننده قسمت اعظم آرد مورد استفاده برای تولید نان جامعه ایرانی است.

### مواد و روش‌ها

#### مواد اولیه

در طی واردات گندم از کشورهای حوزه دریای خزر به استان مازندران در سال ۱۳۹۴ در مبدا ورودی به کشور، نمونه‌های گندم طی ۱۴ روز متوالی و در هر روز ۳ نمونه جمع‌آوری شد. کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده مناسب برای کروماتوگرافی و تجزیه آزمایشگاهی بوده است.

#### اندازه‌گیری رطوبت

ابتدا به منظور کاهش خطای آزمون و یکنواخت شدن، نمونه‌های گندم تا مش ۲ mm آسیاب شدند. ۱-۳ g از نمونه ( $m_0$ ) آسیاب شده در یک پلیت خشک شده به وزن ( $m_1$ ) توزین شد. پلیت حاوی نمونه به مدت ۳ h در آن با دمای معین  $105^\circ\text{C}$  قرار گرفت. سپس پلیت حاوی نمونه داخل دسیکاتور به دمای محیط رسید (وزن پلیت به همراه نمونه خشک شده  $m_2$ ) و درصد رطوبت از معادله ۱ محاسبه شد (۱۵).

$$W\% = \frac{(m_2 - m_1)}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

#### اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها

نمونه‌ها پس از تمیز کردن، برای یکنواختی و کاهش خطای آزمون به خوبی تا مش ۲ mm آسیاب و الک شدند. ۵۰ g

## تجزیه و تحلیل آماری

محاسبات آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. جهت تعیین معنی‌دار بودن داده‌ها از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. مقایسات میانگین و تعیین همبستگی بین داده‌ها براساس مربع پیرسون (Pearson) در سطح احتمال ۰/۰۵ با استفاده از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد.

## یافته‌ها

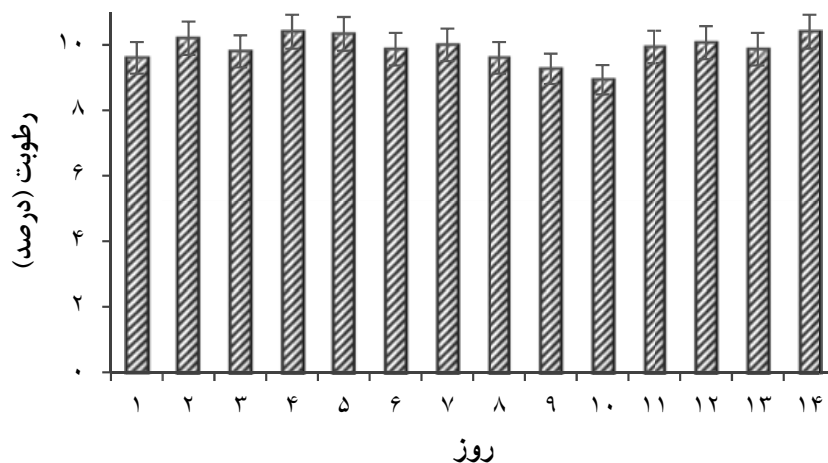
## تعیین محتوای رطوبت

براساس نتایج آنالیز واریانس، نمونه‌های جمع‌آوری شده طی ۱۴ روز نمونه‌برداری، از نظر درصد رطوبت تفاوت معنی‌داری نشان ندادند ( $p < 0.05$ ) و میزان رطوبت در همه نمونه‌ها، کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (۱۴ درصد) بود. بیشترین

میزان رطوبت با  $10.4 \pm 0.52$  درصد در نمونه روزهای چهارم و چهاردهم و کمترین سطح آن با  $8.93 \pm 0.11$  درصد در نمونه روز دهم مشاهده شد. میانگین رطوبت در کل نمونه‌های گندم وارداتی مورد مطالعه  $9.87 \pm 0.77$  درصد محاسبه شد (نمودار ۱).

## اندازه گیری غلظت میکوتوکسین‌ها

طبق نتایج آنالیز واریانس، نمونه‌های گندم وارداتی جمع‌آوری شده طی ۱۴ روز نمونه‌برداری، از نظر آلودگی به میکوتوکسین‌های OTA، DON و ZEN تفاوت معنی‌دار داشتند ( $p < 0.05$ ). در همه نمونه‌های جمع‌آوری شده، آلودگی به OTA مشاهده شد (نمودار ۲). بیشترین میزان OTA،  $2.92 \pm 0.35$  ng/g در نمونه گندم روز دوم نمونه‌برداری و کمترین آن  $1.16 \pm 0.18$  ng/g در نمونه روز دوازدهم بود.



نمودار ۱- مقادیر درصد رطوبت در نمونه‌های گندم وارداتی به استان مازندران

جدول ۱- غلظت آلاینده‌ها در نمونه‌های گندم وارداتی مورد بررسی

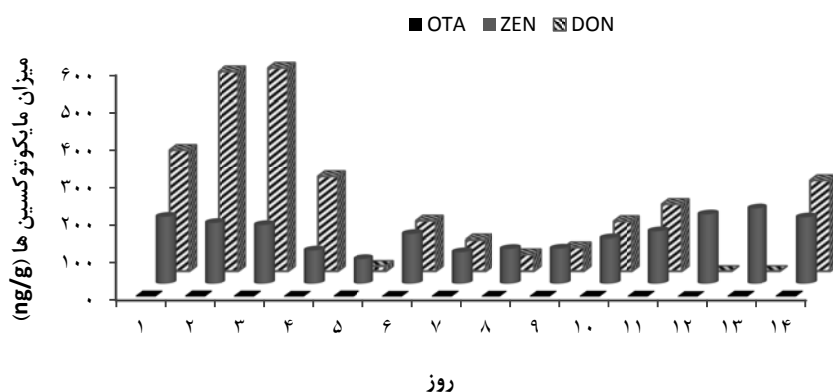
نمونه‌های غیرقابل قبول (درصد)	نمونه‌های آلوده (درصد)	بیشینه مجاز استاندارد ملی (ng/g)	میانگین آلودگی (ng/g)	کمینه آلودگی (ng/g)	بیشینه آلودگی (ng/g)	پارامتر ترکیب
-	۱۰۰	۵	$2.24 \pm 0.65$	$1.16 \pm 0.18$	$2.92 \pm 0.35$	اوکراتوکسین A
-	۱۰۰	۲۰۰	$133.5 \pm 4.82$	$65.78 \pm 3.03$	$200 \pm 0.0$	زیرانون
-	۸۵	۱۰۰۰	$181.6 \pm 2.67$	$13.66 \pm 2.36$	$541.67 \pm 5.05$	دئوکسی نیوالنول

همان‌طور که در نمودار ۲ مشاهده می‌شود، در بررسی سطوح ZEN، ۱۰۰ درصد نمونه‌ها آلوده به این سم قارچی بودند. اما میزان آلودگی‌ها در محدوده مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (۲۰۰ ng/g) بود. بیشترین میزان آلودگی با مقدار ۲۰۰±۰/۰۰ ng/g در نمونه روز سیزدهم و کمترین آن با ۶۵/۷۸±۳/۰۳ ng/g در نمونه روز پنجم مشاهده شد. میانگین آلودگی به ZEN در کل نمونه‌ها، ۱۳۳/۵۰±۴/۸۲ ng/g بود (جدول ۱).

### همبستگی بین غلظت مایکوتوکسین‌ها و درصد رطوبت نمونه‌های گندم

آنالیز همبستگی مربع پیرسون برای بیان همبستگی بین درصد رطوبت نمونه‌های گندم مورد بررسی با غلظت مایکوتوکسین‌های مورد بررسی در آنها انجام شد. نتایج این همبستگی در جدول ۲ آمده است. ارتباط مستقیمی بین میزان DON با درصد رطوبت نمونه‌ها (۰/۰۹۲-) مشاهده نشد و

میانگین آلودگی به OTA در کل نمونه‌ها، ۲/۲۴±۰/۶۵ ng/g محاسبه شد. براساس این نتایج، آلودگی در همه نمونه‌ها کمتر از حد مجاز OTA تعیین شده در استاندارد ملی ایران (۵ ng/g) و در حد قابل قبول برای مصرف بودند (جدول ۱). همچنین DON در نمونه‌های گندم جمع‌آوری شده در طی ۱۲ روز مختلف از مجموع ۱۴ روز نمونه‌برداری (۸۵ درصد از کل روزها) مشاهده شد (نمودار ۲). نمونه گندم روز سوم با مقدار ۵۴۱/۶۷±۵/۰۵ ng/g و نمونه گندم روز پنجم با ۱۳/۶۶±۲/۳۶ ng/g به ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی را نشان دادند. سطوح آلودگی در همه نمونه‌ها بر طبق استاندارد ملی ایران (۱۰۰۰ ng/g) در حد قابل قبول برای مصرف بود. در نمونه‌های روزهای دوازدهم و سیزدهم (۱۵ درصد از کل روزها) نیز، میزان DON کمتر از حد تشخیصی بود. میانگین آلودگی در کل نمونه‌ها ۱۸۱/۶۰±۲/۶۷ ng/g محاسبه شد (جدول ۱).



نمودار ۲- غلظت مایکوتوکسین‌های اکراتوکسین A، زیرالنون و دئوکسی نیوالنون در نمونه‌های گندم

جدول ۲- همبستگی بین غلظت مایکوتوکسین‌ها و درصد رطوبت نمونه‌های گندم

نیوالنون دئوکسی	زیرالنون	اکراتوکسین A	رطوبت	
			۱	رطوبت
		۱	۰/۱۰۴	اکراتوکسین A
	۱	۰/۱۸۵	۰/۱۶۸	زیرالنون
۱	۰/۲۱۷	۰/۰۳۴	-۰/۰۹۲	نیوالنون دئوکسی

است. بنابراین اثر سایر عوامل موثر در توسعه قارچی باید بررسی گردد.

Hedayati (۱۹) با بررسی میزان مایکوتوکسین ZEN در ۱۱۸ نمونه گندم از ۱۲ انبار استان مازندران گزارش کرد در همه انبارهای مورد مطالعه نمونه آلوده به ZEN وجود داشت. ۸۰/۵ درصد نمونه‌ها آلوده به ZEN بوده و ۶۴/۴ درصد نمونه‌ها آلودگی بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران داشتند که در مقایسه با تحقیق حاضر میزان آلودگی به ZEN در نمونه‌های آلوده مشهود و بالاتر از حد استاندارد بود.

یافته‌های Taheri و همکاران (۲۰) نشان داد سطح آفلاتوکسین توتال (Total) در ۲۰۰ نمونه گندم از ۲۵ کارخانه استان گلستان در فصول تابستان و زمستان به ترتیب ۰/۸۲ و ۱/۹۹ ng/g و آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در فصول تابستان و زمستان به ترتیب در ۳/۱ و ۷/۴ درصد نمونه‌های مورد بررسی، بالاتر از حد مجاز استاندارد جهانی، اما کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بود. این محققان گزارش کردند میزان آفلاتوکسین‌ها در فصل زمستان بیشتر از تابستان بوده و رابطه رطوبت و میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و آفلاتوکسین توتال در فصل زمستان قابل توجه بود.

مطالعات متعددی در سراسر جهان میزان مایکوتوکسین‌ها در غلات مختلف از جمله گندم مورد بررسی قرار دادند. Silva و همکاران (۱۲) با ارزیابی سطوح دنوکسی نیوالنول در آرد گندم از دو منطقه جنوبی برزیل گزارش کردند ۹۷ درصد نمونه‌ها آلوده به DON بوده و میزان آلودگی در محدوده ۲۰۰ تا ۴۱۴۰ µg/kg بود. تنها ۱۷ درصد از نمونه‌ها مقادیر DON کمتر از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان نظارت بر سلامت برزیل داشتند. این محققان نشان دادند با وجود اینکه بارندگی در طول پر کردن دانه‌ها در منطقه پتوبرنکو (Pato Branco) تقریباً ۳ برابر بود، میانگین سطوح آلودگی در نمونه‌های گندم از منطقه کوکیها (Cokiha) به‌طور قابل توجهی بالاتر بود. بنابراین پارامتر بارندگی را عاملی منطقی برای پیش‌بینی سطوح آلودگی DON در گندم ندانسته، بلکه ترکیب توزیع بارندگی ثابت (رطوبت نسبی بالا) را به همراه دمای پایین

همبستگی بین رطوبت با OTA و ZEN به ترتیب ۰/۱۰۴ و ۰/۱۶۸ بود که نشان‌دهنده ارتباط مستقیم و بسیار ناچیز است. با توجه به مقدار معیار تصمیم (معنی‌داری)، ضرایب همبستگی بین درصد رطوبت نمونه‌ها با غلظت مایکوتوکسین‌ها معنی‌دار نبود ( $p < 0.05$ ).

## بحث

در این مطالعه درصد رطوبت و مقادیر مایکوتوکسین‌های مختلف در نمونه‌های گندم وارداتی از کشورهای حوزه دریای خزر به استان مازندران اندازه‌گیری شد. رطوبت در تمام نمونه‌ها کمتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران بود. میانگین مقادیر OTA، ZEN و DON به ترتیب  $0.24 \pm 0.65$ ،  $133.50 \pm 4.82$  و  $1811.60 \pm 21.67$  ng/g به‌دست آمد. تمام نمونه‌ها از نظر آلودگی به مایکوتوکسین‌ها طبق استاندارد ملی ایران در حد قابل قبول بودند. احتمالاً به دلیل درصد رطوبت پایین در نمونه‌ها، شرایط مطلوب برای توسعه قارچی در مراحل حمل و نقل و ذخیره‌سازی وجود نداشته و در نتیجه از تولید و تجمع بیش از حد مایکوتوکسین‌ها در نمونه‌های گندم جلوگیری شده است. بنابراین نمونه‌های گندم وارداتی برای مصرف خوراکی ایمن بودند. همچنین بررسی همبستگی بین میزان رطوبت نمونه‌ها و غلظت مایکوتوکسین‌ها رابطه مستقیم و بسیار پایینی را بین میزان رطوبت با دو مایکوتوکسین OTA و ZEN نشان داد. با توجه به اثر آشکار رطوبت بالا بر رشد قارچی و تولید مایکوتوکسین‌ها در مورد غیر معنی‌دار بودن همبستگی بین درصد رطوبت نمونه‌ها با میزان مایکوتوکسین‌ها می‌توان گفت احتمالاً به دلیل نزدیک بودن مقادیر رطوبت در نمونه‌های مختلف و همچنین پایین بودن رطوبت در حد مطلوب و استاندارد، این عامل نمی‌توانست تشدیدکننده توسعه قارچ‌ها در مراحل حمل و نقل و یا انبارداری گردد و نقش چندانی در تفاوت بین میزان مایکوتوکسین‌ها در نمونه‌های مختلف داشته باشد. علاوه بر این، ZEN و DON قارچ‌های مزرعه‌ای هستند بنابراین حضور آنها بیشتر به شرایط محیطی در مزرعه مرتبط

ارزیابی کردند. نتایج این محققان نشان داد ۱۰۰۰ نمونه (۵/۶۶ درصد) از کل نمونه‌ها مورد مطالعه از نظر آلودگی به DON مثبت بودند. مقدار میانگین آلودگی نمونه‌ها  $1047 \mu\text{g}/\text{kg}$  بود. اما تنها ۲۴۲ نمونه (۱/۱۶ درصد) دارای سطح آلودگی بالای حداکثر سطح مجاز تعیین شده توسط مقررات فعلی برزیل بودند. نتایج تحقیق حاضر میزان DON کمتری را در نمونه‌های گندم مورد مطالعه نشان داد.

مطالعات انجام شده در مناطق مختلف آب و هوایی نشان می‌دهند نوع و میزان آلودگی به میکوتوکسین‌ها وابستگی زیادی به شرایط آب و هوایی منطقه دارد. در هر منطقه جغرافیایی نیز شرایط فصلی و محلی در طول مراحل رشد محصول از اهمیت زیادی در تغییرات میزان میکوتوکسین‌ها برخوردار است. به‌طور کلی، شرایط محیطی، رطوبت بیش از حد، شدت دما، شرایط خشکی، آسیب‌های حشرات، سیستم‌های برداشت و روش‌های زراعی می‌تواند سبب ایجاد استرس و مستعد کردن گندم به رشد قارچ‌ها شده و آلودگی به میکوتوکسین را افزایش دهد. همچنین تفاوت در نتایج میکوتوکسین‌ها در تحقیقات مختلف احتمالاً به سال‌های مورد بررسی، نوسانات سالانه آب و هوا و شرایط ذخیره‌سازی نیز مربوط است (۱).

با توجه به اهمیت گندم در رژیم غذایی جامعه ایران و همچنین پتانسیل بالای این محصول برای تجمع توکسین‌های قارچی، نظارت دوره‌ای بر میزان میکوتوکسین‌ها در این محصول استراتژیک، برنامه‌ریزی جامع برای ایجاد سیستم عملیاتی مناسب به منظور کاهش آلودگی‌های قارچی و اقدامات کنترل کیفی روی گندم‌های وارداتی ضروری است. همچنین لازم به ذکر است اجرای روش‌های مناسب کشاورزی، استفاده از ارقام مقاوم و بهره‌گیری از سیستم‌های GMP و HACCP بعد و قبل از برداشت، سبب کاهش میکوتوکسین‌ها و عرضه غذای سالم به مصرف‌کننده خواهد شد.

### نتیجه‌گیری

گندم و فرآورده‌های آن حساس به صدمات قارچی در مراحل قبل و پس از برداشت هستند که آسیب‌های جدی بر سلامت

( $20^{\circ}\text{C}$  -  $16^{\circ}\text{C}$ ) عامل مهمتری گزارش کردند.

در تحقیقی Ahmed و همکاران (۲۱) نشان دادند شایع‌ترین قارچ‌های جدا شده از ۵۰ نمونه گندم مختلف جمع‌آوری شده از بازار غزه، قارچ‌های آسپرژیلوس پارازیتیکوس ۸۴ درصد، آسپرژیلوس فلاووس ۷۲ درصد، آلترناریا ۴۸ درصد، آسپرژیلوس نیجر ۶۴ درصد، فوزاریوم اکسی‌پوروم ۳۶ درصد، پنی‌سیلیوم ۲۲ درصد، آسپرژیلوس اکراسئوس ۲ درصد و آسپرژیلوس ورسی کلر ۴ درصد بود. ۴۱ نمونه (۸۲ درصد) از کل نمونه‌ها آلودگی به آفلاتوکسین را نشان دادند. میزان آفلاتوکسین توتال در نمونه‌های شمال غزه، رفح، خان‌یونس، منطقه میانه و شهر غزه به ترتیب  $8/62$ ،  $6/36$ ،  $4/18$ ،  $3/13$  و  $2/33 \text{ ng}/\text{g}$  بود که در سه منطقه شمال غزه، رفح و خان‌یونس بالاتر از حداکثر مجاز استاندارد داخلی بود.

در مطالعه Bryla و همکاران (۳) مقادیر ۲۶ میکوتوکسین را در ۱۴۷ نمونه از غلات کشت شده در ۵ منطقه لهستان بررسی و گزارش کردند نمونه‌های شرق و جنوب لهستان نسبت به نمونه‌های شمال و غرب آلودگی بالاتری داشتند. مهم‌ترین آلودگی‌های قارچی یافت شده در این نمونه‌ها توکسین‌های تولید شده توسط فوزاریوم نظیر DON (در ۱۰۰ درصد نمونه‌ها)، ZEN، متابولیت‌های DON و انیان‌تین‌ها بودند. این محققان اعلام کردند حضور میکوتوکسین‌ها در غلات منعکس‌کننده شرایط آب و هوایی غالب مناسب برای توسعه قارچی در طول مراحل گلدهی و رشد گیاه است. در بین ژنوتیپ‌های مختلف مورد بررسی، برخی ژنوتیپ‌ها آلودگی بیشتری نسبت به سایرین نشان دادند. آلوده‌ترین رقم مورد بررسی آنها گندم تری‌تکاله بود. اما نکته قابل توجه یافتن برخی میکوتوکسین‌های نوظهور مانند انیان‌تین‌ها به همراه سایر میکوتوکسین‌های شناخته شده و قانونمند شده در نمونه‌های تری‌تکاله مورد آزمایش بود (۳).

Machado و همکاران (۲۲) کیفیت ۱۵۰۴ نمونه گندم تولید شده در برزیل و فرآورده‌های آن (سبوس و آرد گندم) را از نظر سم قارچی DON توسط دستگاه LC-MS/MS

رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و کلیه عزیزانی که در انجام این پروژه ما را یاری نمودند، کمال تقدیر و تشکر را بنمایند.

### References

- Cheli F, Pinotti L, Novacco M, Ottoboni M, Tretola M, Dell'Orto V. Mycotoxins in Wheat and Mitigation Measures: Wheat Improvement, Management and Utilization. London: IntechOpen; 2017.
- Ahmadi k, Golizadeh H, Ebadzadeh HR, Hatami F, Fazli Estabragh M, Hoseynpoor R, et al. Agricultural Statistics of Crop Year 2014-2015. Tehran: Ministry of Agriculture Jihad; 2016 (in Persian).
- Bryła M, Waśkiewicz A, Podolska G, Szymczyk K, Jędrzejczak R, Damaziak K, et al. Occurrence of 26 mycotoxins in the grain of cereals cultivated in Poland. *Toxins*. 2016;8(6):160.
- Golinski P, Waskiewicz A, Wisniewska H, Kiecana I, Mielniczuk E, Gromadzka K, et al. Reaction of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to infection with *Fusarium* spp.: mycotoxin contamination in grain and chaff. *Food Additives and Contaminants*. 2010;27(7):1015-24.
- Mosayebi M, Mirzaee H. Determination of mycotoxin contamination and heavy metals in edible rice imported to Golestan Province. *Iranian Journal of Health and Environment*. 2014;6(4):503-14 (in Persian).
- Smith M-C, Madec S, Coton E, Hymery N. Natural co-occurrence of mycotoxins in foods and feeds and their in vitro combined toxicological effects. *Toxins*. 2016;8(4):94.
- Conkova E, Laciakova A, Styriak I, Czerwiecki L, Wilczynska G. Fungal contamination and the levels of mycotoxins (DON and OTA) in cereal samples from Poland and East Slovakia. *Czech Journal of Food Science*. 2006;24(1):33-40.
- Marin S, Ramos A, Cano-Sancho G, Sanchis V. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;60:218-37.
- Pfohl-Leszkwicz A, Manderville RA. an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2007;51(1):61-99.
- Stanciu O, Banc R, Cozma A, Filip L, Miere D, Mañes J, et al. Occurrence of *Fusarium* Mycotoxins in Wheat from Europe—A Review. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*. 2015;19(1):35-60.
- Hallen-Adams HE, Wenner N, Kuldau GA, Trail F. Deoxynivalenol biosynthesis-related gene expression during wheat kernel colonization by *Fusarium graminearum*. *Phytopathology*. 2011;101(9):1091-96.
- Silva CL, Benin G, Rosa AC, Beche E, Bornhofen E, Capelin MA. Monitoring levels of deoxynivalenol in wheat flour of Brazilian varieties. *Chilean journal of agricultural research*. 2015;75(1):50-56.
- Tamm C, Breitenstein W. The biosynthesis of trichothecene mycotoxins. New York: Academic Press; 1980.
- Samar MM, Fontán CF, Resnik SL, Pacin AM, Castillo MD. Distribution of deoxynivalenol in wheat, wheat flour, bran, and gluten, and variability associated with the test procedure. *Journal of AOAC international*. 2003;86(3):551-56.
- Farahmandfar R, Farahmandfar E, Ramezani A. Physical properties of rough rice. *International Journal of Food Engineering*. 2009;5(5).
- ISIRI. Cereal and cereal products: Determination



- of deoxynivalenole by HPLC method and DONSPE column clean up-test method. Karaj: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2012 (in Persian).
17. ISIRI. Foodstuffs- Cereal and cereals Products: Determination of ochratoxin A by HPLC method and immunoaffinity column clean up-test method. Karaj: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2017 (in Persian).
18. ISIRI. Foodstuffs- Cereal and cereals products: Determination of zearalenon by HPLC method and immunoaffinity column clean up-Test method. Karaj: Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2012 (in Persian).
19. 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.
20. Taheri N, Semnani S, Roshandel G, Namjoo M, Keshavarzian H, Chogan A, et al. Aflatoxin contamination in wheat flour samples from Golestan Province, Northeast of Iran. Iranian journal of Public Health. 2012;41(9):42-47.
21. Ahmed MA, Ghada S, Ferial AI, Sherif RM. Fungi and aflatoxins associated with wheat grains in Gaza governorates. African Journal of Microbiology Research. 2015;9(46):2275-82.
22. Machado LV, Mallmann CA, Mallmann AO, Coelho RD, Copetti MV. Deoxynivalenol in wheat and wheat products from a harvest affected by fusarium head blight. Food Science and Technology (Campinas). 2017;37(1):8-12.



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

Original Article



## Determination of mycotoxin contamination in imported wheat to Mazandaran province by high performance liquid chromatography

R Farahmandfar<sup>1,\*</sup>, S Rashidaei Abandansari<sup>2</sup>, E Maghsoudlou<sup>1</sup>, M Asnaashari<sup>1</sup>

1- Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

2- Department of Food Science and Technology, Faculty of Engineering and Basic Sciences, Islamic Azad University, Sari, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 5 December 2017

**Revised:** 21 February 2018

**Accepted:** 25 February 2018

**Published:** 20 June 2018

**Keywords:** Mycotoxin, Ochratoxin A, Deoxynivalenol, Zearalenone, Wheat

**\*Corresponding Author:**  
r.farahmandfar@sanru.ac.ir

### ABSTRACT

**Background and Objective:** Wheat is one of the most important cereals due to the supply of much of the flour used in bread making in most countries, such as Iran. Wheat contamination with mycotoxins is subject to different production and maintenance conditions. As a carcinogen and mutagen, monitoring the amount of mycotoxins in imported wheat and prevention of the entry of low quality wheat to the food chain are essential. Therefore, this study was conducted to determine the contamination of the wheat imported to Mazandaran province.

**Materials and Methods:** Samples of the wheat imported from Caspian Sea countries were evaluated for moisture content and mycotoxins contamination (ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol). Mycotoxins contamination was determined by HPLC method via purifying with immunoaffinity column for ochratoxin A and zearalenone, and DONSPE column for deoxynivalenol.

**Results:** The results of this study showed that the average of ochratoxin A, zearalenone, and deoxynivalenol in the samples were 2.24, 133.50 and 181.66 ng/g, respectively.

**Conclusion:** All the samples were within the acceptable level for mycotoxin according to the permissible limits of Iran National Standard. Additionally, a direct relation between deoxynivalenol and moisture content of the samples (-0.092) was not observed and the correlation between moisture content and ochratoxin A and zearalenone was 0.104 and 0.168, respectively.