بررسی میزان مایکوتوکسین زیرالنون در آرد گندم و جو استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۵ به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

سامان مهدوی[۱*]، لیلا اسماعیل‌زاده[۲]، حسین شیخلویی[۳]

۱- گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
۲- گروه مهندسی صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
۳- گروه شیمی و مهندسی صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۵)

زیرالنونمایکوتوکسین استروژنیکیاست که بوسیله چندین گونه از قارچ‌های فوزاریوم تولید می‌شود و عوارض مختلفی را در انسان ایجاد می‌کند. هدف از این تحقیق اندازه‌گیری میزان زیرالنون در آرد گندم و جو استان آذربایجان شرقی به روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا(HPLC) است. در این مطالعه مقطعی، ۱۰ نمونه آرد گندم و ۱۰ نمونه آرد جو با برندهای تجاری مختلف از استان آذربایجان شرقی به صورت تصادفی جمع‌آوری گردید. بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و انجام روش‌های آماده سازی بر روی نمونه‌ها با استفاده از ستون‌های افینیتی، برای اندازه‌گیری زیرالنون از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد. از هر نمونه سه تکرار جهت انجام آزمایش استفاده گردید.نتایج نشان داد که ۱۰ درصد از نمونه‌های آرد گندم بیشتر از حد مجاز حاوی سم زیرالنون بودند و ۹۰ درصد از نمونه‌های آرد گندم کمتر از حد مجاز حاوی زیرالنون بودند. در هیچ یک از نمونه‌های آرد جو، زیرالنون بیشتر از حد مجاز مشاهده نشد. در ۲۰ درصد از نمونه‌های آرد جو، زیرالنون تشخیص داده نشد. محدوده غلظت زیرالنون، میانگین و انحراف معیار میزان آلودگی نمونه‌های آرد گندم به ترتیب برابر با ۸۹/۹۹ ، ۳۲/۶۰±۲۰۶/۷۸ و ۵۷/۹۵ و جو به ترتیب برابر با ۶۶/۶۹ ، ۳۰/۱۸±۱۰۲/۶۹ و ۲۸/۷۰ میکروگرم در کیلوگرم بدست آمد. براساس آزمون t مستقل بین میزان سم زیرالنون در نمونه‌های آرد گندم و آرد جو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).پایش پیوسته سطح آلودگی زیرالنون در غلات و به‌ویژه در آرد گندم و جو ضروری است.

کلید واژگان: آرد جو، آذربایجان شرقی، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، آرد گندم، زیرالنون

* مسئول مکاتبات: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

۱- مقدمه

مایکوتوکسین‌ها (سموم قارچی) ترکیباتی با وزنم ولکولی پایین هستند که متابولیت ثانویه قارچی محسوب می‌شوند [۱]. مایکوتوکسین‌ها ب هدلیل داشتن تنوع ساختمانی و خصوصیات متفاوت فیزیکی، طیف وسیعی از اثرات بیولوژیک نظیر ژنوتوکسیسیتی، جهش زایی، سرطانزایی، ناقص الخلقه‌زایی، اثرات سمی بر کلیه، کبد، پوست، سیستم اعصاب و... را ایجاد می‌نمایند [۲،۳]. زیرالنون یک ماده سمی از گروه مایکوتوکسین‌ها است که اغلب توسط گونه‌هایی از قارچ فوزاریوم، مانند *فوزاریومگرامیناروم* و *فوزاریومکالموروم* بر روی محصولاتی نظیر گندم، جو، ذرت و ذرت خوشه‌ای تولید می‌شود [٤]. قارچهای مولد زیرالنون جزءقارچهای انباری محسوب می‌شوند. ذرت معمولا در مرحله ذخیره سازی به وسیله قارچ فوزاریوم آلوده می‌شود، در حالیکه محصولاتی نظیر گندم و جو عمدتا در سطح مزرعه آلوده می‌شوند. درجه حرارت پایینویادرجهحرارتهای متناوببالاوپایینورطوبت مناسب، برای تولید زیرالنون مطلوب می‌باشد. نتایج برخی مطالعات نشان داده است که اگر رطوبت نمونه‌ها۱۸-۱۵درصد باشد، تولید زیرالنون همراه با افزایش درجه حرارت تا مرز۱۸ درجه سانتیگراد افزایش خواهد یافت [۱]. زیرالنون به دلیل داشتن خواص لیپوفیلیکو غیر یونیزه بودن در pH فیزیولوژیک غشا، از طریق انتشار غیر فعال از غشاهای بیولوژیکی عبورمی‌کند. مطالعات نشان می‌دهد که زیرالنون پس از تجویز خوراکی، نسبتاً به سرعت جذب می‌شود و ممکن است در خلال جذبش، بوسیله بافت روده در خوک‌ها و احتمالا در انسان متابولیزه شود. یکی از مشخصات زیرالنون و سایر سموم فوزاریومی، بالا بودن مقدار حجم انتشار است، که نشان دهنده توزیع گسترده این سموم در بدن می‌باشد [۵]. بررسی متابولیسم زیرالنون در کبد موش صحرایی نشان داده است که این مایکوتوکسین از دو راه عمده متابولیزه میشود. راه اصلی گلوکورونیداسیون و راه کم اهمیت‌تر، احیا شدن به یکی از ایزومرهای زیرالنون است. این مایکوتوکسین، در حالت اصلی و زمانی که به متابولیت‌هایش تبدیل می‌شود خواص سمی از خود نشان می‌دهد. در حالت اصلی به دلیل تمایلی که به گیرنده‌های استروژنی دارد، به آنها متصل می‌شود و سبب بیان ژن‌های مربوطه می‌شود اما متابولیسم این سم، می‌تواند زیرالنول را پدید آورد. زیرالنون از β و α مایکوتوکسین‌هایی به شمار می‌آید که دارای اثرات زیانبار خونی است [٦]. زیرالنون به همراه زیرالنول باعث آتروفیتیموس و فعال‌سازی ماکروفاژهاشده و همانند ترکیبات مشابه خود می‌تواند تکثیر لنفوسیتی در برابر میتوژن‌ها را مهار کند. مهمترین اثر سمی زیرالنون، اثر استروژنیک، مانند اختلالات غدد درون ریز آن است [۷،۸]. مطالعاتی از ایتالیا و پورتوریک و احتمال ارتباط این سم را با بزرگی پستان دختران جوان و بلوغ زود رس جنسی در اثر مصرف ذرت آلوده به زیرالنون گزارش نموده‌اند [۹]. همچنین اظهار شده است که زیرالنون می‌تواند نقشی در عدم توازن هورمونی و سرطان پستان در انسان در نواحی که مصرف زیرالنون بالا می‌باشد،داشته باشد [۱۰]. گندم و جو وارداتی و تولید شده در داخل، قبل از مصرف مدت زمان طولانی در انبارها نگهداری می‌شوند در صورت عدم رعایت شرایط مناسب نگهداری، آلودگی دانه‌های غلات از جمله گندم و جو به قارچها و توکسین‌های ناشی از آن می‌تواند به راحتی اتفاق افتد. لذا آلودگی آرد گندم و جو به عنوان پرمصرف‌ترین غله در ایران به عوامل تهدید کننده سلامتی انسان نظیر توکسین‌های قارچها باید در تحقیقات مورد توجه جدی قرار گیرد. از این رو، هدف از مطالعه حاضر تعیین آلودگی یکی از این عوامل پر خطر (توکسین قارچ یزیرالنون) در آردهای گندم و جو استان آذربایجان شرقی در سال ۱۳۹۵به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به دتکتور فلورسانس می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۱-۲-مواد شیمیایی

محلول استاندارد ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر زیرالنون از شرکت سیگما آلدریچ، استونیتریل و آب مقطر با درجه HPLC و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق با بالاترین درجه خلوص تجزیه ای از شرکت مرک و ستون‌های

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

ایمونوآفینیتی دارای آنتی‌بادی زیرالنون از شرکت VICAM(ZiraTest®Vicam) تهیه گردید.

۲-۲- نمونه‌برداری

در این مطالعه مجموعا" ۱۰ نمونه آرد گندم و ۱۰ نمونه آرد جو با برندهای تجاری مختلف از نانوایی‌های سطح استان آذربایجان‌شرقی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹۵ بطور تصادفی در فواصل زمانی ۱۵ روز جمع‌آوری گردید. از هر برند، ۳ کیلوگرم آرد برداشته و داخل پاکت‌های از قبل استریل ریخته وبه آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان بررسی نمونه، در یخچال در دمای حدود ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (از هر نمونه سه تکرار جهت انجام آزمایش استفاده گردید).

۲-۳-اندازه‌گیریزیرالنون در نمونه‌های آرد گندم و جو

به۲۰ گرم آرد گندم یا جو،۱۰۰ میلیلیتر حلال استخراج استونیتریل-آب (۹۰ به۱۰) اضافه گردید. پس از یک ساعت شیکر، با فیلتر معمولی صاف شده و ۱۵ میلیلیتر از عصاره صاف شده به ۸۵ میلی‌لیتر بافر فسفات اضافه و باورتکس مخلوط شد. سپس با فیلتر PTFE صاف و۵۰ میلیلیتر از عصاره حاصل جدا گردید. برای آماده سازی ستون ایمینوافینیتی دارای آنتی بادی زیرالنون، آن را بر روی دستگاه خلاء منیفلد متصل و۱۵ میلی‌لیتر محلول بافرفسفات سالین (PBS) از آن عبور داده شد. ۵۰ میلیلیتر عصاره از ستون آماده شده با سرعت ۳-۲ میلی‌لیتر در دقیقه یا یک قطره در ثانیه عبور داده شد و سپس ستون با۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه شسته شد. ستون تحت خلأ خشک و سپس ۱/۵ میلیلیتر استونیتریل از ستون عبور داده شد وبه آن۳ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه و۱۰۰ میکرولیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید.

۲-٤-شرایط دستگاه HPLC

دستگاه HPLC مدل SHIMADZU ساخت کشور ژاپن مجهز به سیستم تزریق دستی با حجم لوپ ۱۰۰ میکرولیتر جهت بارگذاری نمونه، پمپ ایزوکراتیک با شدت جریان حجمی ۱ میلی‌لیتر در دقیقه، ستون تجزیه‌ای فاز معکوس ODS (ستونC_{18}) با مشخصات 250 mm×4.6×5 µm، حفاظ ستون: Guard Column Novapak C18 Waters، آشکارساز فلورسانس SHIMADZU مدل RF-X10A و سیستم کامپیوتری پردازش اطلاعات می‌باشد. فاز متحرک شامل مخلوط استونیتریل و آب به نسبت ۳ به ۲ که بعد از تهیه و گاززدائی توسط دستگاه فیلتراسیون حلال، صاف می‌شود. سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه است. جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار به ترتیب با استفاده از روش فاز معکوس، دتکتور فلورسانس با طول موج ۲۷۵nm برانگیختگی و نشر ٤٥٠nm و روش استاندارد خارجی و رسم منحنی کالیبراسیون انجام می‌شود.

۲-۵-تجزیه و تحلیل داده‌ها

از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون t برای مقایسه میانگین داده‌ها استفاده شد. سطح اطمینان مورد استفاده جهت آنالیز آماری ۹۵ درصد در نظر گرفته شد و کلیه آنالیزها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام پذیرفت. رسم نمودارها و گراف توسط نرم‌افزار Excell انجام شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-کروماتوگرام استاندارد زیرالنون و رسم منحنی کالیبراسیون

برای تعیین کروماتوگرام استاندارد زیرالنون محلول استاندارد سم زیرالنون تحت شرایط برنامه‌ریزی شده به دستگاه HPLC تزریق شد و کروماتوگرام شکل (۱) به‌دست آمد. تعیین کروماتوگرام استاندارد برای تشخیص و شناسایی نوع ترکیبات انجام می‌شود. سپس نمونه‌های مجهول به دستگاه HPLC تزریق و کروماتوگرام مربوط به هر یک از آنها مشخص گردید (شکل ۲). جهت اندازه‌گیری مقدار سم دیازینون از روش استاندارد خارجی و رسم منحنی کالیبراسیون استفاده گردید. در این مرحله ابتدا چند محلول با غلظت‌های مشخص و متفاوت استاندارد زیرالنون (غلظت‌های ۲۰، ۵۰، ۸۰، ۱۱۰، ۱٤۰، ۱۷۰ نانوگرم بر میلی لیتر) با حلال فاز متحرک تهیه نموده و به HPLC تزریق شد و نمودار پاسخ سیستم (مساحت سطح زیر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

پیک)در مقابل غلظت رسم شده که نمودار حاصله نمودار کالیبراسیون خوانده می‌شودکه در نهایت نشان‌دهنده محدوده خطی آنالیز است و رابطه یک خط راست از آن بدست می‌آید. میزان خطی بودن نمودار کالیبراسیون با کمیتی به‌نام ضریب تصحیح (R^2) (جدول۱) سنجیده می‌شود. برای آنالیزهای ویژه این مقدار نباید کوچکتر از ۰/۹۹ باشد. با استفاده از معادله خط بدست آمدهو جاگذاری سطح زیر پیک نمونه مجهول در مقدار x، غلظت آنالیت (سم زیرالنون) محاسبه می‌شود (شکل ۳).

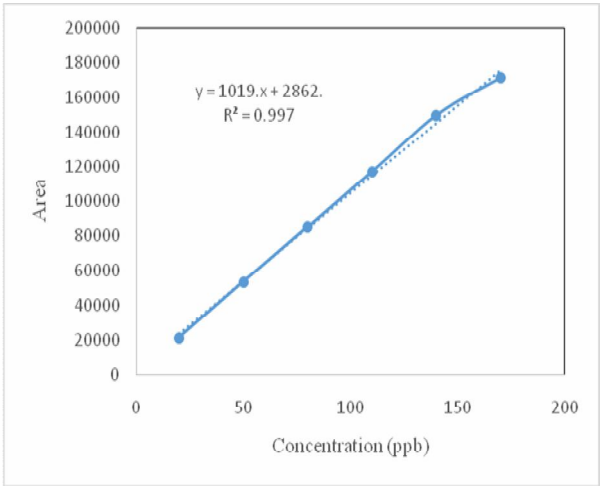

Fig 3 Diagram of calibration curve of measurement of zearelenone by HPLC method.

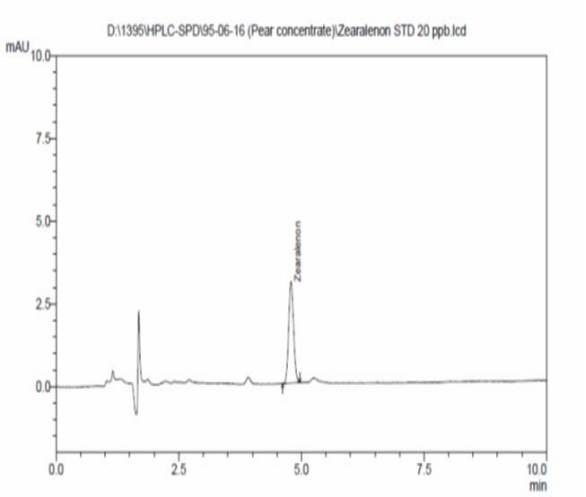

Fig 1 Standard chromatogram of zearalenone with a concentration of 20 ng/ml.

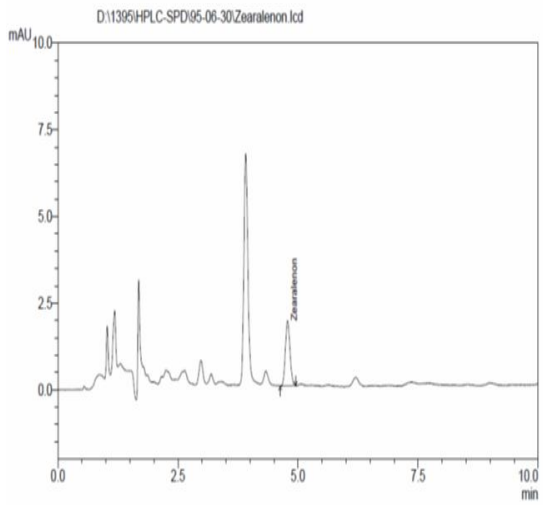

Fig 2 An example of a chromatogram of zearalenone in wheat flour by RP-HPLC with fluorescence detector.

۳-۲- ارقام شایستگی اندازه‌گیری زیرالنون در آرد گندم و جو

دقت یکی از معیارهای مهم در ارزیابی اعتبار روش همه اندازه‌گیری‌های کمی است. بروز خطاهای تصادفی، در حین اجرای روش آزمون باعث کاهش دقت می‌شود. به عبارت دیگر دقت روش بیانگر میزان پراکندگی نتایج بدست آمده از یکسری آزمون مشابه انجام شده بر روی یک نمونه واحد می‌باشد. بنابراین برای محاسبه دقت روش ارائه شده در این پژوهش ٦ آزمون مشابه بر روی یک نمونه در سطح آلودگی ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر صورت گرفت و مقدار انحراف استاندارد نسبی محاسبه گردید. برای تشخیص قابل قبول بودن، انحراف معیار نسبی بدست آمده به صورت تجربی باید کمتر از مقداری باشد که از فرمول Horwitz؛ $RSD=2^{(1-\log C)}$ محاسبه می شود که در آن C غلظت آنالیت است[۱۱].همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود مقدار انحراف استاندارد نسبی در اندازه‌گیری زیرالنون در آرد گندم و جو به روش HPLC برابر ۳/۱۸ درصد است که در محدوده قابل قبول قرار دارد و نشان می‌دهد که روش برنامه‌ریزی شده از دقت بالائی برخوردار است. همچنین به منظور محاسبه و نمایش حساسیت روش از دو کمیت حد تشخیص(LOD=3S/N) و حد تعیین مقدار (LOQ=10S/N)استفاده شد. مقدار حد تشخیص و حد تعیین در اندازه‌گیری زیرالنون در آرد گندم و جو به روش HPLC به ترتیب برابر ۳/٦۳ و ۱۰/۲٤ نانوگرم در میلی‌لیتر است و نشان می‌دهد که روش ارائه شده از حساسیت خوبی در اندازه‌گیری زیرالنون در آرد گندم و جو برخوردار است (جدول ۱).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

Table 1 Figures of merit of measuring the zearalenonein wheat and barley flour by HPLC method with fluorescence detector.

Analyte	Correlation Coefficient	Relative standard deviation[1](%)	Linear ranges (ng mL^{-1})	Limit of detection (ng mL^{-1})	Limit of quantification[3] (ng mL^{-1})
zearalenone	0.9971	3.18	10-500	3.63	10.24

1. Relative standard deviation (% RSD) is calculated at n=6.
2. Limit of detection (LOD) is calculated as 3 S / N.
3. Limit of quantification (LOQ) is calculated as 10 S / N.

۳-۳- صحت اندازه‌گیری زیرالنون در آرد گندم و جو به روش HPLC

صحت به معنی نزدیکی/توافق بین نتایج آزمون با میزان واقعی است. محاسبه این کمیت در واقع بیانگر میزان خطای عمدی در نتایج می‌باشد. یکی از راه‌های اندازه‌گیری صحت، غنی‌سازی نمونه و اندازه‌گیری درصد بازیافت است.به این منظور٦ نمونه از آرد گندم و جو توسط سم استاندارد زیرالنون با غلظت ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر آلوده و به همراه نمونه‌هایی از همان آرد گندم و جو که آلوده نشده بود، همزمان و طی شرایط یکسان مورد آزمون قرار گرفت [۱۲،۱۳]. مطابق جدول ۲، محدوده درصد زیرالنون در آرد گندم و جو مورد آزمون در محدوده ۹۷/۶۰-۹۲/۵٦ درصد قرار دارد که در محدوده قابل قبول بازیافت قرار گرفته است و این بدین معنی است که روش از صحت لازم برخورداراست.

Table 2 Evaluation of measurement validity of zearalenone in wheat and barley flour by HPLC method.

Sample	Concentration of Zearalenone	Added value	Found value	Resumption percentage
wheat flour 1	(ng mL-1)	(ng mL-1)	(ng mL-1)	96.41
wheat flour 2	3.51*±75.24	50	0.002±120.52	95.14
wheat flour 3	2.23±68.46	50	0.003±112.71	97.60
barley flour 1	4.41±122.52	50	0.002±168.81	92.56
barley flour 2	Lack of recognition	50	0.002±46.28	96.45
barley flour 3	2.05±52.32	50	0.002±98.69	97.39

* Standard deviation ± Mean (n=3)

٤-۳-توزیع میزان سم زیرالنون در نمونه‌های آرد گندم و جو

طبق جدول۳، میانگین سم زیرالنون در نمونه های آرد گندم برابر ۸۹/۹۹ ودر نمونه های آرد جو برابر ٦٦/٦۹ می‌باشد.

Table 3. The statistics regarding distribution of zearalenone amount in wheat and flour samples.

Treatment	Mean	Median	Standard deviation	Variation range	Lower limit	Upper limit
Wheat flour	89.99	64.77	57.95	174.19	32.60	206.78
Barley flour	66.69	64.96	28.70	72.51	30.18	102.69

نتایج حاصل از تحلیل داده با آزمون t نشان داد که میزان سم زیرالنون در نمونه های آرد گندم از حد استاندارد مورد قبول کمتر می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که میانگین نمونه‌های مورد بررسی آرد گندم به میزان ۱۱۰ میکروگرم در هر کیلوگرم از میزان استاندارد تعریف شده برای این محصول کمتر می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که نمونه‌های آرد گندم مورد مطالعه از نظر میزان سم زیرالنون قابل قبول وبهداشتی می‌باشند (جدول٤).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

Table 4 Single-group t test for dose of zearalenonein wheat flour samples.

Variable	The standard dose of Zearalenonein wheat flour = 200 µg/kg						
Zearalenone	Treatment	Mean	Standard deviation	Difference in mean	T	df	sig
	wheat flour	89.99	57.96	-110	6	9	0.000

H0 :$\bar{x}=\mu$ HA: $\bar{x}\neq\mu$

نتایج حاصل از آزمون t نشان داد که میزان سم زیرالنون در نمونه های آرد جو مطالعه شده ، از حد استاندارد مورد قبول کمتر می‌باشد. مقایسه میانگین ها نشان می دهد که میانگین نمونه های مورد بررسی آرد جو به میزان ۱۳۳/۳۱ میکرو گرم در هر کیلو گرم از میزان استاندارد تعریف شده برای این محصول کمتر می‌باشد. بنابراین به نظر می رسد که نمونه های آرد جو مورد مطالعه از نظر میزان سم زیرالنون قابل قبول وبهداشتی می‌باشند (جدول۵). براساس آزمون t مستقل بین میزان سم زیرالنون در نمونه های آرد گندم و آرد جو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

Table 5 Single-group t test for dose of zearalenone in barley flour samples.

Variable	The standard dose of Zearalenone in barley flour = 200 µg/kg						
Zearalenone	Treatment	Mean	Standard deviation	Difference in mean	T	df	sig
	Barley flour	66.69	28.70	--133.31	13.14	7	0.000

H0 :$\bar{x}=\mu$ HA: $\bar{x}\neq\mu$

مایکوتوکسین‌ها ترکیباتی با ساختمان‌های شیمیایی متفاوت با وزن مولکولی کوچک می‌باشند که متابولیت ثانویه کپک‌ها و قارچ‌ها بوده و بر روی محصولات کشاورزی قبل یا بعد از برداشت، طی حمل و نقل و نگهداری رشد می‌کنند. تشکیل مایکوتوکسین‌ها یک مشکل جهانی محسوب می‌شود و مطابق با آمار سازمان کشاورزی و غذایی سازمان ملل متحد تقریبا" ۲۵ درصد دانه‌های زراعی جهان آلوده به مایکوتوکسین‌ها هستند و طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی(WHO) مایکوتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین یکی از عوامل موثر در بروز بیماری‌های ناشی از مواد غذایی گزارش شده‌اند[١٤].حد مجاز استاندارد ملی ایران برای زیرالنون ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم می‌باشد[۱۵]. در مطالعه حاضر میانگین غلظت زیرالنون در آرد گندم ۸۹/۹۹ میکروگرم در کیلوگرم و محدوده آلودگی ۲۰۶/۷۸-۳۲/۶۰ میکروگرم در کیلوگرم و در آرد جو میانگین غلظت زیرالنون ٦٦/٦٩ میکروگرم در کیلوگرم و محدوده آلودگی ۱۰۲/٦۹-۳۰/۱۸ میکروگرم در کیلوگرم به‌دست آمد. مقایسه نتایج تحقیق اخیر با حد مجاز استاندارد ملی نشان داد که فقط ۱۰ درصد از نمونه‌های اخذ شده آرد گندم بیشتر از حد مجاز تعیین شده حاوی زیرالنون بودند و تمام نمونه‌های آرد جو کمتر از حد مجاز حاوی زیرالنون بودند. در مطالعه‌ای که هدایتی (۱۳۸۱) بر روی مایکوتوکسین زیرالنون در گندم‌های انباری استان مازندران انجام دادند ۸۰/۵ درصد نمونه‌ها به زیرالنون آلوده بودند و ٦٤/٤ درصد نمونه‌ها حاوی بیش از ۲۰۰ µg/kgزیرالنون بودند[١٦].هوشمند و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای میزان مایکوتوکسین زیرالنون در آرد نانوایی‌های شهر خرم آباد به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان دادند که در ۵ درصد از نمونه‌های آرد میزان زیرالنون بالاتر از حد مجاز (۲۰۰µg/kg) می‌باشد[۱۷]که با نتایج حاصل از تحقیقات اخیر مطابقت دارد.در تحقیقی که توسط Almedia-Ferreira و همکاران (۲۰۱۳) با عنوان فراوانی زیرالنون در محصولات گندم و ذرت تجاری در ایالات Parana برزیل صورت گرفت از ۱۰۹ نمونه مورد آزمایش گندم هیچ زیرالنونی در محصولات آسیاب شده گندم مشاهده نشد[۱۸]که نتایج تحقیق حاضر با نتایج این پژوهش مطابقت ندارد.در تحقیقی که توسط AL-Hazami (۲۰۱۰) بر روی فراوانی سم زیرالنون در گندم‌های جمع‌آوری شده از بازار جده عربستان صعودی به روش HPLC انجام گرفت، از ۳۰ نمونه مورد آزمایش، ٤۰٪ گندمها از نظر زیرالنون مثبت بودند[۱۹].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

میزان آلودگی این محصولات بسیار بیشتر از نتایج بدست آمده در تحقیق اخیر می‌باشد.احسانی و همکاران (۲۰۱٤) به بررسی میزان سم زیرالنون در گندم سه منطقه شمال، غرب و جنوب ایران پرداختند و نشان دادند که بیش از ۵۰ درصد از نمونه‌ها آلوده به سم زیرالنون بودند [۲۰]. در بررسی که Garcia و همکاران (۲۰۰۹) بر روی میزان زیرالنون در گندم در نقاط مختلف دنیا انجام دادند نشان دادند که ۳٦/۵ درصد نمونه‌ها به زیرالنون آلوده بودند[۲۱]. AbdAlla (۱۹۹۷) از ٤۰ نمونه گندم برداشت شده در کشور مصر، ۱۲/۵ درصد آلودگی به زیرالنون را گزارش کردند [۲۲]. در اکثر مطالعات غلظت زیرالنون در جو و گندم مابین ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم بوده است و تنها در چند مطالعه غلظت زیرالنون در گندم و جو بالاتر از ۱۰۰ میکروگرم در کیلوگرم گزارش شده است [٦]. نمونه‌های آرد گندم و جویی که در مطالعه حاضر از نظر آلودگی به زیرالنون مورد بررسی قرارگرفتند، دقیقًا مشخص نبوده است که از محصولات برداشت شده از استان آذربایجان‌شرقی می‌باشد یا از دیگر استان‌ها و یا کشورهای دیگر وارد شده است. با توجه به اهمیت گندم و جو از لحاظ غذایی و با عنایت به کاربرد فراوان این محصولات در دنیا اندازه‌گیری میزان زیرالنون در مراحل مختلف فرآوری، نگهداری آرد گندم و آرد جو حائز اهمیت می‌باشد. تفاوت مقادیر زیرالنون به دست آمده در آرد گندم و جو در این تحقیق با نتایج سایر تحقیقات احتمالا می‌تواند مربوط به شرایط آب و هوایی، گرمای هوا و رطوبت طولانی مدت و بارش قبل از برداشت محصول باشد که برای رشد قارچ فوزاریوم و تولید مایکوتوکسین در طول کشت و دوره رسیدن نهایی این محصول مناسب است. همچنین می‌تواند ناشی از تفاوت در زمان نمونه‌گیری و آزمایش، فصل مورد مطالعه، روش آزمایش و رقم گندم و جو نسبت داد. حتی برخی مطالعات نشان می‌دهند، نحوه خشک کردن غلات نقش به‌سزایی در میزان زیرالنون در غلات داشته است [۲۳،۲٤].نتایج این مطالعه نشان داد که هرچند درصد کمی از نمونه‌های مورد آزمایش آرد گندم و جو حامل مایکوتوکسین زیرالنون بودند و بقیه نمونه‌ها نیز دارای میزان پائین‌تری از حداکثر حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران بودند، اما از آنجایی که غذای غالب مردم ایران آرد گندم و جو می‌باشد بطوریکه میزان سرانه مصرف نان در ایران ۱٦۰ Kg و بیش از ۳ برابر میزان سرانه مصرف بسیاری از کشورهای اروپایی است لذا لازم است برای کاهش میزان و درصد آلودگی مواد غذایی، خصوصا آرد گندم و جو به زیرالنون، اقدامات بهداشتی اتخاذ شود تا خطرات این توکسین برای مصرف‌کنندگان به حداقل برسد.

٤- نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و با توجه به رویه کشور در زمینه تولید و افزایش مصرف سرانه غلات، نیاز به انجام رویکردهای مناسب در زمینه مربوط به آلودگی‌زدایی غلات برای ممانعت از ترشح و تولید انواع سموم قارچی به ویژه زیرالنون در غلات ضروری به نظر می‌رسد.

۵- سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه عزیزانی که ما را در انجام این کار تحقیقی یاری فرمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

٦- منابع

[1] Allameh A RM. Mycotoxins. 2001. Tehran: Tehran: Imam Hossein University Pub.
[2] Fung F, Clark RF. 2004. Health effects of mycotoxins: a toxicological overview. Journal of Toxicology: Clinical Toxicology;42:217-34.
[3] Prelusky D, Rotter B, Rotter R. 1994. Toxicology of mycologist. Eagan Press.
[4] Mirocha C, Pathre S, Christensen C. Zearalenone. 1977. Mycotoxins in human and animal health;345.
[5] Shin BS, Hong SH, Bulitta JB, Hwang SW, Kim HJ, Lee JB, et al. 2009. Disposition, oral bioavailability, and tissue distribution of zearalenone in rats at various dose levels. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A;72:1406-11.
[6] Zinedine A, Soriano JM, Molto JC, Manes J. 2007. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. Food and chemical toxicology;45:1-18.
[7] Jiang S, Yang Z, Yang W, Wang S, Liu F, Johnston L, et al. 2012. Effect of purified zearalenone with or without modified montmorillonite on nutrient availability,

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

genital organs and serum hormones in post-weaning piglets. Livestock Science;144:110-8.
[8] Hagler Jr WM, Towers NR, Mirocha CJ, Eppley RM, Bryden WL, editors. 2001. Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen. Fursarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St Paul, Minnesota.
[9] Kuiper-Goodman T, Scott P, Watanabe H. 1987. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. Regulatory toxicology and pharmacology;7:253-306.
[10] Pitt J, Basilico J, Abarca M, Lopez C. 2000. Mycotoxins and toxigenic fungi. Medical mycology;38:41-6.
[11] Long GL, Winefordner J. Limit of detection. 1983. A closer look at the IUPAC definition. Anal. Chem;55:712–24.
[12] Horwitz W. 1982. Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. Analytical Chemistry;54:67A-76A.
[13] Zhadanov AY. 1999. Catalogue of the manufacturers and suppliers of analytical testing and measurement. Available from: www.instruments.ru.
[14] Gourama H, Bullerman LB. 1995. Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus: aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds†: a review. Journal of Food protection;58:1395-404.
[15] ISIRI 5925 (Institute of Standard and Industrial Research of I.R. Iran) MTLoMiFaFNS, 2002; 5925.
[16] Hedayati M. A 2005. Survey on wheat samples for mycotoxin zearalenone from Mazandaran Province 2002. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences;15:89-94.
[17] Masjedi A. 2015. The determination of zearalenone levels in wheat flour of bakeries in Khorramabad city by high performance liquid chromatography. Yafteh;16:70-7.
[18] Almeida-Ferreira GC, Barbosa-Tessmann IP, Sega R, Machinski Junior M. 2013. Occurrence of zearalenone in wheat-and corn-based products commercialized in the State of Paraná, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology;44:371-5.
[19] Al-Hazmi N. 2010. Determination of zearalenone (ZEA) in wheat samples collected from Jeddah market, Saudi Arabia. African Journal of Microbiology Research;4:2513-9.
[20] Ehsani M, Nosrati AC, Shirazi-Beheshtiha SH. 2014. Measuring toxin Zearalenone in wheat harvested from three regions of North, West and South of Iran.;3:69-76.
[21] Garcia D, Ramos AJ, Sanchis V, Marín S. 2009. Predicting mycotoxins in foods: a review. Food Microbiology;26:757-69.
[22] Abd AE. 1997. Zearalenone: incidence, toxigenic fungi and chemical decontamination in Egyptian cereals. Die Nahrung;41:362-5.
[23] Hadiani MR, Yazdanpanah H, Ghazi-Khansari M, M. Cheraghali A, Goodarzi M. 2003. Survey of the natural occurrence of zearalenone in maize from northern Iran by thin-layer chromatography densitometry. Food Additives & Contaminants;20:380-5.
[24] Reza Oveisi M, Hajimahmoodi M, Memarian S, Sadeghi N, Shoeibi S. 2005. Determination of zearalenone in corn flour and a cheese snack product using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. Food additives and contaminants;22:443-8.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]

Determination of zearalenone in wheat and barley flour of East Azabaijan province by HPLC method in 2016

Mahdavi, S. [1*], Esmaeelzadeh, L. [2], Sheikhlooei, H. [3]

1. Department of Microbiology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
2. Department of Food Engineering, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
3. Department of Chemistry and Food Engineering, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran

(Received: 2017/09/13 Accepted:2017/12/19)

Zearalenone is an estrogenic mycotoxin that is produced by many species of Fusarium and causes different complications in human. The purpose of this study was to measure the amount of zearalenone in wheat and barley flour of East Azerbaijan province by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method in 2016. In this cross sectional study, 10 samples of wheat flour and 10 barley flour with different brands of East Azerbaijan province were collected randomly. After transferring the samples to the laboratory and preparing them by using of affinity columns, High Performance Liquid Chromatography apparatus was used for measuring zearalenone. Three replicates of each sample were used for testing. The results showed that 10% of wheat flour samples exceeded the standard limit of zearalenone and 90% of wheat flour samples were below the standard limit of zearalenone. In none of the samples of barley flour, zearalenone did not exceed standard limit. In 20% of barley flour samples, zearalenone had not been detected. Zearalenone concentration range, mean and standard deviation of contamination in samples of wheat and barley flour were 32.60 ± 206.78, 89.99, 57.95 and 30.18 ± 102.69, 66.69 and 28.70 µg/kg, respectively. According to independent t test, it didn't show statistical significance between amounts of zearalenone in wheat and barley flour samples ($P>0.05$). Continuous monitoring contamination levels of zearalenone in cereals, especially in wheat and barley flour is necessary.

Keywords: Barley flour, East Azerbaijan, High Performance Liquid Chromatography, Wheat flour, Zearalenone

* Corresponding Author E-Mail Address: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-27]