بررسی آلودگی مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین در نمونه‌های برنج استان مازندران با HPLC و طیف سنجی جذب اتمی

رضا فرهمندفر[1*]، مریم اثنی عشری[1]، سلیمه رشیدایی ابندانسری[2]، الهه مقصودلو[1]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ساری، دانشگاه آزاد اسلامی، ایران
(تاریخ دریافت: ۹٦/۰۷/۰٤ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۱/۲۲)

چکیده

برنج ماده اصلی رژیم غذایی خانوارهای ایرانی است که مستعد آلودگی به مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین می‌باشد. تجمع این ترکیبات سمی در بدن منجر به ایجاد بیماری‌های مختلف می‌گردد. بنابراین مطالعه حاضر جهت بررسی آلودگی برنج‌های استان مازندران انجام شد. در این مطالعه، ٤۰ نمونه برنج در استان مازندران جمع آوری شدند و از نظر میزان آلودگی به مایکوتوکسین‌ها (آفلاتوکسین‌های B_1 و آفلاتوکسین توتال، اکراتوکسین A، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول) و فلزات سنگین (سرب، آرسنیک و کادمیوم) مورد بررسی قرار گرفتند. میزان مایکوتوکسین‌ها توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و خالص سازی با ستون ایمونوافینیتی (خالص سازی داکسی نیوالنول با ستون فاز جامد) انجام شد. اندازه‌گیری آرسنیک با دستگاه طیف‌سنجی جذب اتمی بر مبنای تولید هیدرید و برای اندازه‌گیری کادمیوم و سرب از روش طیف‌سنجی نوری جذب اتمی با کوره گرافیتی استفاده شد. نتایج نشان داد میانگین آفلاتوکسین‌های B_1 و آفلاتوکسین توتال، اکراتوکسین A، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول به ترتیب ۰/۰۲۷، ۰/۳٦، ۲۷/۷٤، ۱۳/۷۰ و ۵۵/٤ نانوگرم بر گرم بود. سرب در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد و میانگین غلظت کادمیوم و آرسنیک به ترتیب ۰/٤۸ و ۲۱/۷۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. به طور کلی، نمونه‌ها از نظر همه مایکوتوکسین‌ها به استثناء اکراتوکسین A (در ۲۵ ٪ نمونه‌ها) در محدوده مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران بودند. با این وجود، ۷۵ ٪ و ۱۵ ٪ نمونه‌ها به ترتیب از نظر آرسنیک و کادمیوم بالاتر از حد مجاز تعیین شده قرار داشتند.

کلید واژگان: اکراتوکسین، برنج، دئوکسی‌نیوالنول، زیرالنون، فلزات سنگین

* مسئول مکاتبات: r.farahmandfar@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

غلات به دلیل تامین مواد مغذی و ضروری و همچنین ویتامین‌های مهم، مواد معدنی و عناصر کم‌مصرف نقش ضروری در رژیم غذایی انسان دارند [۱]. در بین غلات، برنج غذای اصلی بیش از نیمی از مردم دنیا است، به طوری که تولید جهانی این محصول در سال ۲۰۱٤ بر اساس آمارنامه FAO به میزان ۷٤۱٤۷۷۷۱۱ تن می‌باشد [۲]. برنج در ایران نیز به دلیل نقشی که در الگوی مصرفی و تأمین غذای مورد نیاز جامعه بر عهده دارد از اهمیت خاصی برخوردار است. بر اساس آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، در سال زراعی ۹۳-۹۲، سطح زیر کشت انواع واریته‌های برنج در کشور حدود ۵۳۹ هزار هکتار برآورد شده که معادل ٤/۵۵ درصد کل سطح برداشت محصولات زراعی و٦/۳ درصد از کل سطح برداشت غلات می‌باشد. در این میان، استان مازندران با دارا بودن ۳۷ درصد (۱۹۹۳٦٦ هکتار) از سطح برداشت اراضی زیر کشت برنج، مقام نخست کشور را به خود اختصاص داده است [۳].

کشت برنج در مناطق نیمه گرمسیری و شرایط نامساعد همچون دما و رطوبت بالا منجر به انتشار قارچ‌ها می‌شود [٤]. برنج قبل و پس از برداشت در مزرعه توسط قارچ‌های اندوفیت و در طول ذخیره‌سازی نامناسب توسط قارچ‌های ساپروفیت مورد حمله قرار می‌گیرد لذا می‌تواند به عنوان یک بستر ایده آل برای تولید مایکوتوکسین‌ها تلقی گردد [۵]. کشاورزی و روش‌های برداشت ضعیف، خشک کردن نامناسب، حمل و نقل و ذخیره‌سازی نامناسب، رشد قارچی را تقویت کرده و خطر تولید مایکوتوکسین را افزایش می‌دهد. مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که توسط قارچ-ها تولید می‌شوند و ممکن است طی مصرف خوراکی، استنشاقی یا تماس پوستی برای مهره‌داران مضر باشند. معمول‌ترین مایکوتوکسین‌های یافت شده در مواد غذایی شامل آفلاتوکسین‌ها، اکراتوکسین A، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول و مجموع فومانایزین B_1 و B_2 می‌باشد. مایکوتوکسین‌ها به استثناء فومانایزین B عموما لیپوفیل هستند، بنابراین تمایل به تجمع در بخش چربی گیاهان و حیوانات دارند [٦و۷].

در حال حاضر بیش از ٤۵۰ گروه مایکوتوکسین مختلف شناسایی شده است. در این میان، مهمترین و سمی‌ترین گروه، آفلاتوکسین‌ها هستند. آفلاتوکسین‌ها، دیسفورانوکومارین‌هایی هستند که اساسا توسط دو گونه *آسپرژیلوس* از دسته فلاوی[1] تولید شده و عموما در آب و هوای گرم و مرطوب یافت می‌شوند. نسبت و درجه آلودگی دانه‌ها، به عوامل متفاوتی مانند دما، رطوبت، فعالیت آبی، آسیب فیزیکی و دیگر شرایط ذخیره‌سازی بستگی دارد. مهمترین آفلاتوکسین‌ها B_1، B_2، G_1 و G_2 می‌باشند که در این میان، B_1 بیشترین سمیت را داشته و بعد از آن B_2، G_1 و G_2 قرار دارند. آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (IARC) آفلاتوکسین B_1 (AFB_1) را به عنوان عامل سرطانزا انسانی (گروه ۱ سرطانزاها) و آفلاتوکسین M_1 و M_2 را به عنوان عامل سرطانزا احتمالی (گروه دوم سرطانزاها) تعیین کرده است که عمدتا کبد را تحت تاثیر می‌دهند. آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 مشتق منوهیدروکسیله آفلاتوکسین B_1 هستند که در شیر دام‌های با رژیم غذایی آلوده وجود دارند. آفلاتوکسین‌ها پایداری حرارتی زیادی دارند و ممکن است فرآیندهای سرخ‌کردن و طبخ‌کردن را تحمل کنند. در انسان‌ها مصرف مداوم غذاهای آلوده شده با AF منجر به بیماری‌های مختلفی از جمله سرطان کبد، تاثیرات بر سیستم باروری، تضعیف سیستم ایمنی، آنسفالوپاتی و فیبروز بینابینی می‌گردد [۸و۹].

اکراتوکسین A[2] (OTA) توسط دو جنس *آسپرژیلوس* و *پنی سیلیوم* تولید می‌شوند. OTA سمی‌ترین اوکراتوکسین بوده و از نظر ساختاری مشابه با اسیدآمینه فنیل آلانین (Phe) است، بنابراین بر تعدادی از آنزیم‌ها که از فنیل آلانین به عنوان سوبسترا استفاده می‌کنند، تاثیر بازدارندگی دارد، به ویژه Phe-tRNA سنتتاز که می‌تواند موجب بازدارندگی سنتز پروتئین شود. این مورد یک سم میتوکندریایی است که موجب آسیب به میتوکندری، پراکسیداسیون لیپیدی و مداخله در فسفریلاسیون اکسیداتیو می‌گردد [۱۰]. آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان[3] (IARC) اکراتوکسین نوع A را به عنوان یک ترکیب احتمالی سرطانزا برای انسان در گروه دوم سرطانزاها طبقه بندی کرده است. در بین اعضاء بدن، کلیه مهمترین عضوی است که تحت تأثیر OTA قرار می‌گیرد. در انسان‌ها OTA به عنوان عامل سرطان اورولوژیک مجرای ادراری فوقانی شناخته شده است و در حیوانات، دریافت OTA سبب افزایش شیوع سرطان بیضه می‌گردد [۱۰و۱۱].

1. Flavi
2 Ochratoxin A
3. International Agency for Research on Cancer

فومونایزین‌ها[4] گروهی از مایکوتوکسین‌ها با ساختاری مشابه اسفینگانین، پیش‌ساز اصلی اسفنگولیپیدها هستند. *فوزاریوم ورتیسیلیوئیدها* و *فوزاریوم پرولیفراتوم* گونه‌های اصلی تولیدکننده فومونایزین‌ها هستند. از دیدگاه سم‌شناسی، مهم‌ترین فومونایزین شناخته شده گروه B به ویژه فومانایزین B_1 (FB_1) می‌باشد. FB_1 آنزیم سرامیدسنتاز را که آسیلاسیون اسفینگانین و بازیافت اسفنگوزین را کاتالیز می‌کند، متوقف می‌نماید. بازدارندگی سرامیدسنتاز، اسفینگانین درون سلولی و دیگر ساختارهای اسفنگوئیدی (که به‌شدت ترکیباتی سیتوتوکسیک می‌باشند) را افزایش می‌دهد. این عدم توازن به عنوان عامل اصلی سمیت شناخته شده و می‌تواند سرطان‌زایی فومانایزین‌ها را توجیه کند [۱۲].

زیرالنون[5] (ZEN) یک بتا رسورسیکلیک اسید لاکتون می‌باشد که توسط گونه‌های *فوزاریوم*، مانند *فوزاریوم گرامینه‌آروم* و *فوزاریوم کالموروم* تولید می‌شود [۱۰]. ZEN به دلیل داشتن خواص لیپوفیلیک و غیریونیزه بودن در pH فیزیولوژیک غشاء، از طریق انتشار غیرفعال از غشاهای بیولوژیکی عبور می‌کند و نسبتا به سرعت جذب می‌شود [۱۳]. ساختار شیمیایی این مایکوتوکسین‌ها شباهت زیادی به ۱۷-بتااسترادیول دارد. ۱۷-بتااسترادیول گیرنده سیتوزولی استروژن بوده و نقش مهمی در تولید مثل دارد. بنابراین ZEN به دلیل تمایلی که به گیرنده‌های استروژنی دارد، به آن‌ها متصل می‌شوند و سبب بیان ژن‌های مربوطه می‌گردد [۱٤و۱۵]. ZEN می‌تواند رشد سلول‌ها را توسط گیرنده‌های استروژنی در غدد پستانی تحریک کند و در بروز سرطان پستان در انسان نقش داشته باشد. همچنین احتمال ارتباط این سم در بلوغ جنسی زودرس گزارش شده است. در حیوانات اثرات سمی ZEN موجب سرطان‌زایی، جهش‌زایی، سمیت در باروری و سیستم ایمنی می‌گردد [۱۵].

تریکوتسن‌ها[6] گروهی از مایکوتوکسین‌ها با ساختار حلقوی تتراسیکلیک می‌باشند که توسط گونه‌های *فوزاریوم* تولید می‌شوند. در حدود ۱۷۰ تریکوتسن شناخته شده است که به دلیل تفاوت در گروه عاملی هیدروکسیل و گروه‌های جانبی استوکسی، به چهار نوع (A-D) تقسیم‌بندی شده‌اند. معمول‌ترین آنها، نوع A (با سموم HT-2 و T-2) و نوع B (با سم دئوکسی‌نیوالنول[7] (DON)) هستند. انواع C و D شامل برخی تریکوتسن‌های کم اهمیت‌تر می‌باشند. مهمترین اثر این مایکوتوکسین‌ها مهار سنتز پروتئین‌های یوکاریوتی با اتصال به زیرواحد ریبوزومی S ٦۰ و واکنش با پپتیدیل ترانسفراز آنزیمی می‌باشد. این اثر مانع تشکیل پیوند پپتیدی به دلیل ساختار شیمیایی ویژه تریکوتسن می‌شود [۱۰]. اگرچه DON به اندازه دیگر تریکوتسن‌ها سمی نیست، اما یکی از آلاینده‌های اصلی غلات در سراسر جهان است. تاثیرات حاد سمی شدن با DON در انسان‌ها دردهای شکمی، سرگیجه، سردرد، التهاب گلو، اسهال و استفراق و مدفوع خونی است [۷و۱٦].

فلزات سنگین عناصری با جرم اتمی بیشتر از ۵۵/۸ g/mol هستند که قادر به تجزیه زیستی نبوده و تمایل به تجمع در بخش‌های زیستی دارند و زمانی‌که مقدار آن‌ها بیشتر از حد مجاز باشند، می‌توانند سلامتی انسان را به خطر اندازند [۱۷و۱۸]. در این میان به خصوص اثرات سمی کادمیوم، سرب و آرسنیک شناخته شده است. تجمع کادمیوم در انسان، به عنوان عامل اختلالات کلیوی، نارسایی ریه، ضایعات استخوانی، سرطان و فشار خون بالا در نظر گرفته می‌شود [۱۹]. آرسنیک دارای خواص سرطان‌زایی است و سرب عوارض جدی بر سلامت کودکان می‌گذارد. سرب در سطوح بالا سبب حمله به مغز و سیستم عصبی مرکزی شده، منجر به کما و تشنج و حتی مرگ می‌گردد [۲۰و۲۱]. فعالیت‌های انسانی از جمله فرآیندهای صنعتی، حمل و نقل و استخراج معادن، کوددهی و آبیاری با فاضلاب دلایل عمده انتقال فلزات سنگین به آب و خاک می‌باشند [۲۲]. آلودگی ناشی از تجمع فلزات سنگین یکی از تهدیدهای مهم برای منابع آب و خاک بوده و جذب فلزات سنگین از اراضی آلوده توسط محصولات کشاورزی یکی از مهمترین راه‌های ورود این عناصر به زنجیره غذایی است. در میان محصولات کشاورزی، برنج به دلیل میزان بالای جذب و تجمع این فلزات سنگین محصولی مورد توجه است. برخی مطالعات مقدار بالای فلزات سنگین (سرب، کادمیوم و آرسنیک) را در دانه‌های برنج کشورهای مختلف نشان دادند [۲۳و۲٤]. در این مطالعه، با توجه به سهم بالای استان مازندران در تولید برنج مصرفی خانوارهای ایرانی، به منظور ایجاد امنیت غذایی به بررسی مایکوتوکسین‌هایی نظیر آفلاتوکسین، اکراتوکسین A، زیرالنون، دئوکسی‌نیوالنول و همچنین فلزات سنگین شامل کادمیوم، سرب و آرسنیک در ٤۰ نمونه برنج جمع‌آوری شده از بازار محلی استان مازندران پرداخته شده است.

4 Fumonisins
5 Zearalenone
6 Trichothecenes
7 Deoxynivalenol

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه و شیمیایی

چهل نمونهیک کیلوگرمی برنج از بازار محلی شهرهای مختلف استان مازندران در زمستان ۹٤ جمع‌آوری شد. کلیه مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده مناسب برای کروماتوگرافی و تجزیه آزمایشگاهی از شرکت شیمیایی مرک[8] و سیگما-آلدریچ[9] تهیه شد.

۲-۲- اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها

نمونه‌ها پس از جمع‌آوری و تمیز کردن، برای یکنواختی و کاهش خطای آزمون به خوبی با مش mm ۲ آسیاب و الک شدند. سپس آزمون آفلاتوکسین B_1، آفلاتوکسین توتال، اکراتوکسین، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول طبق استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ٦٨٧٢ و ٩٢٣٨، ٩٢٣٩ و ١٠٢١٥ به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا[10] (HPLC) و خالص سازی با ستون ایمونوافینیتی انجام شد [۲۵، ۲٦، ۲۷ و ۲۸]. استخراج مایکوتوکسین‌ها از نمونه‌های مورد آزمون با استفاده از حلال متانول:آب (درجه ۳) با نسبت ۲:۸ انجام شد. مایکوتوکسین بدست آمد و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و تا غلظت معینی با آب مقطر رقیق گردید. سپس از ستون ایمونوافینیتی دارای آنتی‌بادی‌های ویژه با سرعت یک قطره در ثانیه عبور داده شد. بدین ترتیب مایکوتوکسین متصل شده به آنتی‌بادی‌های درون ستون متصل می‌شود. مایکوتوکسین به آنتی‌بادی درون ستون توسط عبور حلال شستشو (مخلوط متانول: استونیتریل: آب درجه ۳ با نسبت ۱:۱:۳) از داخل ستون شسته و وارد محفظه جمع آوری شد و سپس با آب رقیق گردید. با استفاده از محلول‌های استاندارد کاری اختصاصی هر مایکوتوکسین، محلول‌های استاندارد کالیبراسیون تهیه شد. منحنی کالیبراسیون با تزریق غلظت‌های معینی از محلوهای استاندارد مایکوتوکسین مورد نظر به دستگاه HPLC (کمپانی واترز، امریکا، مدل آلیانس ۲٦۹۵) 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، مشتق-ساز و دتکتور فلوئورسانس؛ و از طریق مقایسه سطح زیر منحنی استاندارد با نمونه مجهول با احتساب ضریب رقت برحسب نانوگرم بر گرم محاسبه شد.

۲-۳- اندازه‌گیری فلزات سنگین

اندازه‌گیری آرسنیک به روش طیف‌سنجی جذب اتمی بر مبنای تولید هیدرید انجام شد. در این روش مواد آلی در یک سیستم دربسته با اسید نیتریک هضم شده و یون آرسنیک پنج ظرفیتی در مجاورت یدید پتاسیم به یون آرسنیک سه ظرفیتی احیاء گردید. هیدرید آرسنیک توسط سدیم بورو هیدرید و پیش از اتمی شدن در سلول کوارتز گرم شده با شعله تولید شد. اندازه‌گیری به روش طیف‌سنجی جذب اتمی مجهز به لامپ دوتریوم در طول موج nm ۱۹۳/۷ انجام شد. برای اندازه‌گیری کادمیوم و سرب از روش طیف‌سنجی نوری جذب اتمی با کوره گرافیتی (واریان، امریکا) طبق استاندارد استفاده گردید [۲۹]. ابتدا نمونه، خشک شده و سپس با افزایش تدریجی دما در محدوده دمایی ۵۰ ±۵۰۰ سانتی‌گراد خاکستر گردید. در این مرحله، محلول اسید کلریدریک ٦ مولار اضافه شده و تا حد خشک شدن تبخیر گردید. باقی‌مانده، در محلول اسید نیتریک ۰/۱ مولار حل شده و در ادامه، تعیین مقدار عنصر به روش طیف‌سنجی جذب اتمی با استفاده از کوره گرافیتی در طول موج مربوط به هر عنصر صورت گرفت.

٤- نتایج

طبق نتایج این تحقیق، آلودگی نمونه‌های برنج به آفلاتوکسین B_1 بسیار پایین بود به طوری که کمتر از حد تعیین مقدار[11] (LOQ) بدست آمد. LOQ برای AFB_1 برابر ng/g ۱ بود (که نشانه حساسیت بالای روش برای تعیین مقدار آفلاتوکسین B_1 است). ۱۹ نمونه (٤٧/٥ ٪) آلوده به AFB_1 بودند (شکل ۱).

بیشترین سطح آلودگی ng/g ۰/٤ در برنج شماره ۱۳ و کمترین آن ng/g ۰/۰۱ در برنج شماره شماره ۲، ۷، ۹، ١٦ و ٤٠ مشاهده شد، که کمتر از بیشینه مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (ng/g ۵) بود. در ۲۱ نمونه (٥٢/٥ ٪) نیز آلودگی به AFB_1 مشاهده نشد و میانگین آفلاتوکسین B_1 در همه نمونه‌ها برابر ۰/۰۲۷ بود (جدول ۱).

8. Merck
9. Sigma–Aldrich
10 High performance liquid chromatography
11. Limit of quantification

آفلاتوکسین توتال در ۲۲ نمونه (۵۵ ٪) از ٤۰ نمونه برنج مورد بررسی مشاهده شد (شکل ۱). نمونه برنج شماره ۱۳ با مقدار ۳/۵۲ *ng/g* و برنج شماره ۲ با ۰/۵۰ *ng/g* به ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی را نشان دادند. سطوح آلودگی در همه نمونه‌ها کمتر از بیشینه مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (۳۰ *ng/g*) بود. در ۱۸ نمونه برنج (٤۵ ٪) نیز، آفلاتوکسین توتال مشاهده نشد. میانگین آلودگی در کل نمونه‌ها ۰/۳٦ محاسبه شد (جدول ۱).

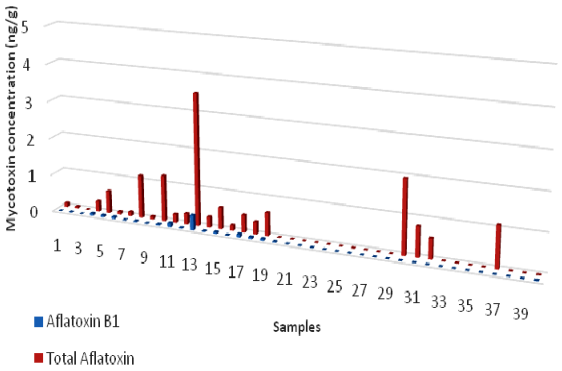

Fig 1 Levels of aflatoxin B_1 and total aflatoxin in rice samples of Mazandaran province

Table 1 Occurrence and levels of different mycotoxins in rice samples of Mazandaran province

Type of contamination	MaC (ng/g)	MiC (ng/g)	MeC (ng/g)	MPLNS (ng/g)	CS (%)	US (%)
Aflatoxin B_1	0.4	0.01	0.027	5	47.5	-
Total Aflatoxin	3.52	0.50	0.36	30	55	-
Ochratoxin A	165	0.01	27.74	5	75	25
Zearalenone	62.5	0.6	13.70	200	75	-
Deoxynivalenol	317	10	55.4	1000	72.5	-

* MaC: Maximum Contamination; MiC: Minimum Contamination; MeC: Mean Contamination; MPLNS: Maximum Permissible Limit in National Standard; CS: Contaminated Samples; US: Unacceptable Samples

در ۳۰ نمونه برنج (۷۵ ٪) آلودگی به اکراتوکسین A مشاهده شد (شکل ۲). بیشترین میزان OTA، ۱٦۵ *ng/g* در نمونه برنج شماره ۳۱ و کمترین آن ۰/۰۱ *ng/g* در نمونه‌های شماره ۱۱ و ٦ بود. میانگین آلودگی به OTA در نمونه‌ها، ۲۷/۷٤ *ng/g* بدست آمد. از ٤۰ نمونه برنج در ۱۰ نمونه (۲۵ ٪) اکراتوکسین A مشاهده نشد. ۲۰ نمونه (۵۰ ٪) آلودگی کمتر از حد مجاز اکراتوکسین A تعیین شده در استاندارد ملی ایران (۵ *ng/g*) داشتند و ۱۰ نمونه دیگر (۲۵ ٪)، برنج‌های شماره ۳۰ تا ۳۹ سطوح بالای آلودگی را داشته و طبق استاندارد ملی ایران غیرقابل قبول بودند (جدول ۱).

همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، مقادیر متفاوتی از آلودگی به زیرالنون در ۳۰ نمونه برنج (۷۵ ٪) مشاهده شد. کمترین میزان آن ۰/٦ *ng/g* در نمونه شماره ۱٤ و بیشترین آلودگی ٦۲/۵ *ng/g* در در برنج شماره ۳۳ بود، که کمتر از بیشینه مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (۲۰۰*ng/g*) بود. ۱۰ نمونه برنج (۲۵ ٪) نیز آلودگی به ZEN نداشتند. میانگین آلودگی به ZEN در کل نمونه‌ها، ۱۳/۷۰ *ng/g* بود (جدول ۱).

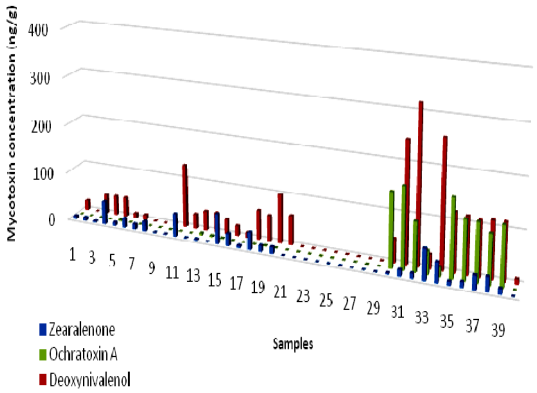

Fig 2 Levels of ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol in rice samples of Mazandaran province

۲۹ نمونه برنج (۷۲/۵ ٪) آلودگی به دئوکسی‌نیوالنول را نشان دادند (شکل ۲). کمترین آلودگی *ng/g* ۱۰ در نمونه‌های برنج شماره ٦، ۷، ۱۰، ۱۷ و ٤۰ و بیشترین میزان آن ۳۱۷ *ng/g* در برنج شماره ۳۲ بود. آلودگی در همه نمونه‌ها کمتر از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران (۱۰۰۰ *ng/g*) بود. همچنین میزان آلودگی در ۱۱ نمونه نیز کمتر از حد تشخیص

بدست آمد. به طور کلی میانگین آلودگی به DON در ٤٠ نمونه، معادل ٥٥/٤ *ng/g* حاصل شد (جدول ١).

آرسنیک در ٣٠ نمونه برنج (٧٥ ٪) مورد بررسی مشاهده شد (شکل ٣). بیشترین میزان آلودگی ٦٠ *mg/kg* در نمونه‌های ١٢ و ١٧ و کمترین آن ٠/٩٥ *mg/kg* در نمونه شماره ٣٧ بود. میزان آرسنیک در این نمونه‌ها بالاتر از بیشینه مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (٠/١٥ *mg/kg*) بود. ١٠ نمونه برنج (٢٥ ٪) نیز آلودگی به آرسنیک نداشتند. میانگین آلودگی به آرسنیک در ٤٠ نمونه، ٢١/٧٤*mg/kg* بود (جدول ٢).

Table 2 Occurrence and levels of heavy metals in rice samples of Mazandaran province

Type of contamination	MaC (mg/kg)	MiC (mg/kg)	MeC (mg/kg)	MPLNS (mg/kg)	CS (%)	US (%)
Arsenic	60	0.95	21.74	0.15	75	75
Cadmium	5	2.6	0.48	0.06	15	15
Plumbum	N.D	N.D	-	0.15	-	-

* MaC: Maximum Contamination; MiC: Minimum Contamination; MeC: Mean Contamination; MPLNS: Maximum Permissible Limit in National Standard; CS: Contaminated Samples; US: Unacceptable Samples

کادمیوم تنها در ٦ نمونه (١٥ ٪) برنج مورد بررسی مشاهده شد (شکل ٣). اما میزان آلودگی در همه این نمونه‌ها بالاتر از بیشینه مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران (٠/٠٦ *mg/kg*) بود. در ٣٤ نمونه دیگر (٨٥ ٪) آلودگی به کادمیوم مشاهده نشد. میانگین آلودگی به کادمیوم در ٤٠ نمونه، ٠/٤٨ *mg/kg* بود. آلودگی به سرب در همه نمونه‌های مورد مطالعه کمتر از حد تشخیص گزارش شد (جدول ٢).

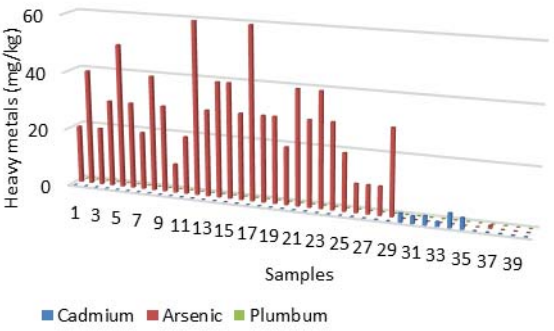

Fig 3 Levels of heavy metals in rice samples of Mazandaran province

٥- بحث

مایکوتوکسین‌ها یکی از مهمترین آلاینده‌های محصولات کشاورزی و مواد غذایی هستند که می‌توانند سبب اثرات سمی مختلفی روی انسان و حیوان نظیر سرطان‌زایی، جهش‌زایی و ضعف سیستم ایمنی گردند [٣٠]. با توجه به اثرات و عوارض مضر این سموم در مواد غذایی، سازمان‌های بین‌المللی و ملی حدودی را برای آن‌ها در برخی مواد غذایی و خوراک دام تعیین نموده اند. مقادیر بالاتر از حدمجاز این آلاینده‌ها اثرات نامطلوبی مانند سرطان را سبب می‌شوند.

در این پژوهش ٤٠ نمونه برنج از بازار محلی استان مازندران جمع‌آوری و میزان آلودگی به مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد نمونه‌های برنج مورد مطالعه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین B_1، آفلاتوکسین توتال، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول و همچنین سرب طبق استاندارد ملی ایران حد قابل قبولی داشتند. در حالی‌که، تقریبا ٢٥٪ از نمونه‌ها از نظر میزان اکراتوکسین A و آرسنیک و همچنین ١٥ ٪ از نمونه‌ها از نظر آلودگی به کادمیوم بالاتر از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی بودند. بنابراین در ٤٠ نمونه مورد مطالعه، تنها یک نمونه طبق استاندارد ملی به عنوان ایمن تلقی می‌شوند.

در بررسی Nazari و همکاران (٢٠١٤) بر شیوع مایکوتوکسین‌ها در ٦٥ نمونه برنج بومی ایران، ٢٠ متابولیت قارچی شناسایی شد. نتایج نشان داد که همه نمونه‌ها به حداقل یک مایکوتوکسین آلوده بودند. شایع‌ترین متابولیت‌های قارچی بریویان‌آمید F، امودین و تریپتوفول بودند. پس از آن آفلاتوکسین B_1، اکراتوکسین A، زیرالنون و فومانایزین B شیوع کمتری داشتند و دئوکسی‌نیوالنول در همه نمونه‌ها سطوح غیرقابل تشخیص داشت. همچنین این محققان حضور هم‌زمان مایوتوکسین‌ها را در نمونه‌های برنج گزارش کردند. به دلیل اینکه بعضی از انواع قارچ‌ها می‌توانند بیش از یک نوع مایکوتوکسین تولید کنند، بنابراین چند مایکوتوکسین ممکن است به طور هم‌زمان یک ماده غذایی را آلوده کنند. آلودگی هم‌زمان با مایکوتوکسین‌ها به دلیل اثرات هم‌افزایی و

تشدیدکنندگی سمی می‌تواند اثرات جدی بر سلامت مصرف کننده ایجاد کند [۳۰]. در مقاله حاضر نیز ۳۱ نمونه برنج (۷۷/۵ ٪) حداقل به طور هم‌زمان به سه نوع مایوتوکسین آلوده بودند. اگرچه همه توکسین‌ها (به استثناء اکراتوکسین A) مقادیر نسبتا پایینی داشته و کمتر از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران بودند، اما مصرف بالای برنج در بین خانوارهای ایرانی به میزان ۱۱۰ گرم در روز برای میانگین وزن بدن فرد بالغ (٦۰ کیلوگرم) مصرف کنندگان در معرض مداوم مایکوتوکسین‌ها قرار خواهند گرفت. لذا این موضوع سلامتی خانوارهای ایرانی را تهدید می‌کند. تنها ۹ نمونه برنج (۲۲/۵ ٪) مورد بررسی در مقاله حاضر عاری از حضور مایکوتوکسین‌ها بوده و از این لحاظ ایمن تلقی می‌شوند.

Sadeghi و همکاران در سال ۲۰۱٦ با بررسی میزان زیرالنون در ۱۲٦ نمونه برنج (۱۰ برنج ایرانی و ٤ برند وارداتی) نشان دادند همه نمونه‌ها آلوده به زیرالنون بوده و متوسط مقدار آن در برنج‌های ایرانی و وارداتی به ترتیب ٤/٤۳ و ۳/۸۸ میکروگرم در کیلوگرم بود که از متوسط زیرالنون به دست آمده در نمونه‌های برنج تحقیق حاضر، به مراتب کمتر می‌باشد. با توجه به خطرات زیرالنون، برای سلامت انسان ضروری است تولید زیرالنون در طول برداشت و ذخیره‌سازی برنج کنترل گردد [۳۱]. در مطالعه‌ای دیگر Tavakoli و همکاران در سال ۲۰۱٤ آفلاتوکسین B_1 ، B_2، G_1 و اکراتوکسین A و زیرالنون را در ۸۰ نمونه برنج وارداتی و ایرانی (به ترتیب ٦۲ و ۱۸ نوع) مصرفی در مراکز نظامی شهر تهران بررسی کردند. در هیچ یک از نمونه‌ها اکراتوکسین A و زیرالنون یافت نشد. اما ٥٤/۸ ٪ برنج‌های وارداتی و ۲۲/۲ ٪ برنج‌های ایرانی آلوده به آفلاتوکسین‌ها بودند. بیشترین مقدار آفلاتوکسین *ng/g* ۲/٤٦ در برنج وارداتی و *ng/g* ۱/۰۹ در برنج ایرانی حاصل شد. اما آلودگی این نمونه‌ها پایین‌تر از بیشینه مجاز استاندارد ملی ایران بود [۳۲] که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. با توجه به مسافت زیاد، شرایط نامناسب حمل و نقل و آلودگی انبارهای ذخیره‌سازی، احتمال آلودگی برنج تا زمان رسیدن به مصرف-کننده در برنج‌های وارداتی دور از انتظار نیست [۳۳].

همچنین Mohammadi و همکاران در سال ۲۰۱۲، ۱۵۲ نمونه برنج وارداتی را ارزیابی و گزارش کردند آلودگی به آفلاتوکسین B_1 در هیچ یک از نمونه‌ها بالاتر از حد مجاز استاندارد ملی ایران (*ng/g* ۵) نبود. همچنین بیان کردند تقریبا در ۷۷٪ از نمونه‌ها آفلاتوکسین توتال با میانگین ۰/٦۷۱ حضور داشت که کمتر از مقدار بیشینه مجاز استاندارد ایران (*ng/g* ۳۰) بود [۳٤]. Mazaheri و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند که ۸۳ ٪ از نمونه‌های برنج وارداتی به ایران (۵۹ نمونه از ۷۱ نمونه) با میانگین *ng/g* ۱/۸۹ آلوده به آفلاتوکسین B_1 بودند، که ۲/۸ ٪ از نمونه‌ها بالاتر از حدمجاز استاندارد ملی ایران بود. همچنین ۸۳ ٪ از نمونه‌ها با میانگین *ng/g* ۲/۰۹ آلودگی به آفلاتوکسین توتال را نشان دادند [۳۵].

یافته‌های مسیبی و میرزایی در سال ۱۳۹۲ نشان داد که میزان آلودگی به مایکوتوکسین‌های مورد بررسی در نمونه‌های برنج وارداتی از کشورهای هند و پاکستان به استان گلستان جهت مصارف خوراکی طبق استاندارد ملی ایران در حد قابل قبول قرار داشتند. میانگین غلظت آفلاتوکسین B_1 و B_2، اکراتوکسین A و آفلاتوکسین توتال در نمونه‌ها به ترتیب ۰/۹۳، ۰/۰۳٦، ۰/۰۳۳ و ۰/۹٦ نانوگرم بر گرم بود و آفلاتوکسین‌های G_1 و G_2 و دئوکسی‌نیوالنول در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد [۳٦]. عقیلی و همکاران در سال ۱۳۹۰، با بررسی عناصر قارچی موجود در نمونه‌های برنج ۱۰۰ کشاورز از شهرهای مختلف استان مازندران، مشاهده کردند میزان آلودگی در نمونه‌ها متفاوت بود و ۹۳ ٪ از نمونه‌ها حداقل در یکی از پلیت‌های کشت و در یکی از دانه‌ها آلودگی قارچی نشان دادند. جنس‌های *آسپرژیلوس*، *کلادوسپوریوم*، *آلترناریا* و *رودوتورولا* و *پنی سیلیوم* بیشترین قارچ‌های جداشده از نمونه‌ها بودند. این محققان اعلام کردند افزایش میانگین رطوبت در نواحی غرب استان از عوامل تفاوت در فراوانی انواع قارچ‌های آلوده‌کننده در دانه‌ها بوده است [۳۷].

در تحقیق دیگری که توسط Lai و همکاران در سال ۲۰۱٤ روی میزان آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین A در ۳۷۰ نمونه برنج از شش استان چین انجام شد، نشان دادند که ٦۳/۵ ٪ و ٤/۹ ٪ از نمونه‌ها حاوی به ترتیب آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسینA بودند. میانگین مقدار AFB_1 و AF توتال و OTA در نمونه-های مثبت به ترتیب ۰/٦، ۰/٦٥ و ۰/۸٥ میکروگرم بر کیلوگرم بود. این محققان اعلام کردند که سطوح مایکوتوکسین نمونه‌ها کمتر از حدود تعیین شده اتحادیه اروپا (EU) بود و نمونه‌های برنج به طور کلی ایمن هستند. بنابراین طبق یافته‌های این محققان میزان آلودگی به آفلاتوکسین B_1 با میانگین *µg/kg* ۰/٦٥ در برنج‌های چینی از میانگین آلودگی

آفلاتوکسین B_1 نمونه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر (میانگین ۰/۰۲۷ ng/g) بالاتر بود. به هرحال، دانه‌های برنج از آلودگی به آفلاتوکسین‌ها و اکراتوکسین در امان نیستند. اسپورهای قارچی ممکن است محصول برنج را در مزرعه در طول برداشت آلوده کند، زیرا برنج معمولا در سطح رطوبت بسیار بالا (۵۰-۳۵٪) برداشت می‌شود [۳۸]. همچنین مطالعات دیگری نشان می‌دهد آلوده شدن برنج و تولید مایکوتوکسین‌ها می‌تواند توسط قارچ‌های انباری (*آسپرژیلوس* و *پنی سیلیوم*) در نتیجه شرایط نامطلوب ذخیره‌سازی، رطوبت و آلودگی حشرات ایجاد گردد [۳۹و۴۰].

هرچند کمیت تولید برنج اهمیت زیادی دارد، اما ایمنی و حفظ کیفیت آن به ویژه قبل از مصرف موضوع مهم‌تری است. بر اساس تحقیقات انجام شده، موثرترین مرحله در آلودگی برنج، مراحل پس از برداشت، حمل و نقل و انبارداری می‌باشد. زیرا پیش از برداشت محصول، قارچ‌های انباری معمولا به میزان ناچیزی در نمونه‌ها یافت می‌شوند. در حالی‌که حضور اسپور آن‌ها یا آلودگی محیط انبار به این قارچ‌ها منجر به گسترش آلودگی می‌گردد. مطالعات گسترده‌ای در خصوص کیفیت برنج و نیز مقاوم‌سازی آن در برابر انواع ارگانیسم‌های آلوده‌کننده در مراکز تحقیقاتی کشت برنج صورت می‌گیرد. اما کشاورزان و مصرف‌کنندگان نیازمند آموزش‌های بیشتری در خصوص شرایط حمل و نقل و انبارداری مناسب می‌باشند [۳۳و۳۷].

در مطالعات دیگری، Huang و همکاران در سال ۲۰۱۳ برای ارزیابی خطرات سلامتی بالقوه تجمع فلزات سنگین (سرب، جیوه، کادمیوم و آرسنیک)، نمونه‌های برنج جمع آوری شده از ژجیانگ چین را مورد بررسی قرار دادند. میانگین مقدار سرب، جیوه، آرسنیک و کادمیوم به ترتیب ۰/۰۶۰، ۰/۰۰۵، ۰/۰۸۰ و ۰/۰۳۷ میکروگرم بر کیلوگرم بود. این ارزیابی در سطح میانگین نشان داد که خطر سلامت در ارتباط با این عناصر از طریق مصرف برنج وجود ندارد [۲۹]. Fu و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی ده فلز سنگین در ۱۳ نمونه برنج پولیش شده از کشور چین و شلتوک آن‌ها گزارش کردند که در مورد آرسنیک، سرب و کادمیوم غلظت فلزات سنگین به طور معنی‌داری در شلتوک بالاتر از دانه‌ها برنج پوست‌گیری شده داشت. غلظت سرب ۳/۵ برابر بالاتر از حدمجاز استاندارد داخلی چین (۰/۲ $\mu g/kg$) بود. اگرچه تنها بخش داخلی برنج (پوست‌گیری شده) توسط انسان مصرف می‌شود، اما قسمت شلتوک برنج نیز در بیشتر موارد خوراک دام شده، بنابراین با مصرف دام آلوده این فلزات مخاطره آمیز دوباره به زنجیره غذایی انسان برمی‌گردند.

Dehghani و همکاران در سال ۲۰۱٤ با بررسی غلظت سرب، کادمیوم و آرسنیک در برنج وارداتی از دو کشور هند و پاکستان در مقایسه با برنج داخلی نشان دادند همه نمونه‌های برنج وارداتی و داخلی آلوده به فلزات سنگین بودند. میانگین غلظت سرب و کادمیوم در نمونه‌ها به طور قابل توجهی بالاتر از حد مجاز تعیین شده توسط استانداردهای مربوطه بود. البته غلظت این عناصر در نمونه‌های برنج وارداتی بیشتر از نمونه‌های داخلی بود [٤۲].

در مطالعه دیگری که توسط Amiri Qandashtani و همکاران در سال ۲۰۱٦ روی میزان فلزات سنگین سرب، کادمیوم و آرسنیک در برنج وارداتی هند و پاکستان عرضه شده در بازار تربت حیدریه انجام شد، میانگین این عناصر در نمونه‌های برنج به میزان قابل توجهی بالاتر از حد ایمن برای مصرف تعیین شده توسط FAO/WHO گزارش شد [٤۳].

Ramezani و همکاران در سال ۲۰۱۳ با تعیین میزان کادمیوم و سرب در ۲۵۲ نمونه برنج کشت شده در سه منطقه استان خوزستان (دشت آزادگان، شاوور و باغملک) نشان دادند غلظت سرب در نمونه‌های برنج هر سه منطقه متفاوت و به طور قابل توجهی بالاتر از حد مجاز تعیین شده توسط سازمان غذا و داروی ایران (IFDO) بود. میانگین مقدار کادمیوم در برنج هر سه منطقه کمتر از حد مجاز قرار داشت. این نتایج نشان دهنده آلودگی بالای منابع آب و خاک این استان به سرب می‌باشد. جذب سرب از طریق ریشه به pH ، نوع رسوبات، وسعت آلاینده‌های آلی خاک، میزان کود مورد استفاده و شرایط فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی خاک و نیز توپولوژی زمین بستگی دارد [٤٤]. اجتناب از کاربرد کودهای ارگانوفسفره در کشت برنج و استفاده از زمین‌هایی با شیب کم می‌تواند تجمع برخی عناصر سنگین را در محصولات کشاورزی کاهش دهد [٤٤و٤۵].

با توجه به این واقعیت که برنج ماده غذایی اصلی در رژیم غذایی جامعه ایران است و تهدید بالقوه‌ای برای سلامت مصرف‌کنندگان از طریق برنج (وارداتی و داخلی) آلوده به مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین وجود دارد، بنابراین برای ترویج برنج سالم اقداماتی باید انجام شود. در بیش از ۷۰

کشور جهان مقرراتی جهت کنترل آفلاتوکسین‌ها در مواد غذایی انسانی به مرحله اجرا درآمده است و از این میان حداقل در ۲۰ کشور مقرراتی جهت کنترل مایکوتوکسین‌های دیگر وضع گردیده است [٤٦]. از جمله اقدامات موثر، نظارت دوره‌ای بر میزان مایکوتوکسین‌ها و فلزات سنگین در دانه‌های برنج، برنامه‌ریزی جامع برای ایجاد سیستم عملیاتی مناسب به منظور کاهش آلودگی‌های قارچی و انتشار فلزات سنگین و همچنین اقدامات کنترل کیفی روی برنج‌های وارداتی می‌باشد. همچنین اجرای روش‌های مناسب کشاورزی، بهره‌گیری از سیستم‌های GMP و HACCP بعد و قبل از برداشت، سبب کاهش مایکوتوکسین‌ها و عرضه غذای سالم به مصرف‌کننده خواهد شد.

٦- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که نمونه‌های برنج مورد بررسی از نظر آفلاتوکسین B_1، آفلاتوکسین توتال، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول در محدوده مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملی ایران بودند. در حالی‌که، از نظر آلودگی به اکراتوکسین A، آرسنیک و کادمیوم به ترتیب ۲۵٪، ۷۵٪ و ۱۵٪ نمونه‌ها برای مصرف غیرقابل قبول بودند. بنابراین تنها یک نمونه از نمونه‌های برنج مورد بررسی برای مصرف خوراکی ایمن بود.

۷- منابع

[1] Bhattacharya, K.R., 2011. Rice quality: A guide to rice properties and analysis. Elsevier.

[2] FAOSTAT. 2017. Database of food and agriculture organization. Rome, Italy. Viewed from <http://faostat.fao.org>.

[3] Ahmadi, K., Gholizadeh, H., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Fazli Estabragh., M., Hoseynpoor, R., Kazemiyan, A., Rafii, M. 2016. Agricultural Statistics of 2014-2015 crop year.

[4] Iqbal, S.Z., Asi, M.R., Hanif, U., Zuber, M. and Jinap, S., 2016. The presence of aflatoxins and ochratoxin A in rice and rice products; and evaluation of dietary intake. Food chemistry, 210, pp.135-140.

[5] Iqbal, S.Z., Asi, M.R., Jinap, S. and Rashid, U., 2014. Detection of aflatoxins and zearalenone contamination in wheat derived products. Food Control, 35(1), pp.223-226.

[6] Hussein, H.S. and Brasel, J.M., 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167(2), pp.101-134.

[7] Silva, C.L., Benin, G., Rosa, A.C., Beche, E., Bornhofen, E. and Capelin, M.A., 2015. Monitoring levels of deoxynivalenol in wheat flour of Brazilian varieties. Chilean journal of agricultural research, 75(1), pp.50-56.

[8] Jiang, Y., Jolly, P.E., Preko, P., Wang, J.S., Ellis, W.O., Phillips, T.D. and Williams, J.H., 2008. Aflatoxin-related immune dysfunction in health and in human immunodeficiency virus disease. Clinical and Developmental Immunology, 2008.

[9] Palliyaguru, D.L. and Wu, F., 2013. Global geographical overlap of aflatoxin and hepatitis C: controlling risk factors for liver cancer worldwide. Food Additives & Contaminants: Part A, 30(3), pp.534-540.

[10] Marin, S., Ramos, A.J., Cano-Sancho, G. and Sanchis, V., 2013. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food and Chemical Toxicology, 60, pp.218-237.

[11] Cariddi, L.N., Escobar, F.M., Sabini, M.C., Campra, N.A., Bagnis, G., Decote-Ricardo, D., Freire-de-Lima, C.G., Mañas, F., Sabini, L.I. and Dalcero, A.M., 2016. Phenolic acid protects of renal damage induced by ochratoxin A in a 28-days-oral treatment in rats. Environmental toxicology and pharmacology, 43, pp.105-111.

[12] Park, J.W., Choi, S.Y., Hwang, H.J. and Kim, Y.B., 2005. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. International Journal of Food Microbiology, 103(3), pp.305-314.

[13] Shin, B.S., Hong, S.H., Bulitta, J.B., Hwang, S.W., Kim, H.J., Lee, J.B., Yang, S.D., Kim, J.E., Yoon, H.S., Kim, D.J. and Yoo, S.D., 2009. Disposition, oral bioavailability, and tissue distribution of zearalenone in rats at various dose levels. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 72(21-22), pp.1406-1411.

[14] Hagler Jr, W.M., Towers, N.R., Mirocha, C.J., Eppley, R.M. and Bryden, W.L., 2001. Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen. In Fursarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St Paul, Minnesota (pp. 321-331).

up-Test method. ISIRI No. 6872. Karaj: ISIRI.
[26] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2012. Foodstuffs- Cereal and cereals Products: Determination of ochratoxin A by HPLC method and immunoaffinity column clean up-Test method. ISIRI No. 9238. Karaj: ISIRI.
[27] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2012. Foodstuffs- Cereal and cereals products: Determination of zearalenon by HPLC method and immunoaffinity column clean up-Test method. ISIRI No. 9239. Karaj: ISIRI.
[28] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2012. Cereal and cereal products: Determination of deoxynivalenole by HPLC method and DONSPE column clean up-Test method. ISIRI No. 10215. Karaj: ISIRI.
[29] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2010. Food and feed-maximum limit of heavy metals. SIRI 12968. Tehran: ISIRI.
[30] Nazari, F., Sulyok, M., Yazdanpanah, H., Kobarfard, F. and Krska, R., 2014. A survey of mycotoxins in domestic rice in Iran by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Toxicology mechanisms and methods, 24(1), pp.37-41.
[31] Sadeghi, E., Barkhordar, S., Mohammadi, G., Moradi, M., Asadi, F., Nesari, S. and Sharafi, K., 2016. Determination of Zearalenone Levels in Consumed Rice Samples in Iran by High Performance Liquid Chromatography (2015). Acta Medica Mediterranea, 32, pp.1945-1949.
[32] Tavakoli, H., Rostami, H., Zabihi, A., Hashemi, S.G. and Bitarafan, Z., 2014. A Survey of Aflatoxins, Ochratoxin and Zearalenone Contamination in Imported and Iranian Rice in Iran. Agricultural Engineering Research Journal, 4 (3), pp. 61-64.
[33] Najafian, M. 2014. Comparison the level of Aflatoxin in different varieties of internal and imported rice in different collection seasons and effect of cooking methods on the level of toxins. Journal of Microbial World, 6(4), pp. 326-336.
[34] Mohammadi, M., Mohebbi, G.H., Hajeb, P., Akbarzadeh, S. and Shojaee, I., 2012. Aflatoxins in rice imported to Bushehr, a southern port of Iran. American-Eurasian
[15] Jiang, S.Z., Yang, Z.B., Yang, W.R., Wang, S.J., Liu, F.X., Johnston, L.A., Chi, F. and Wang, Y., 2012. Effect of purified zearalenone with or without modified montmorillonite on nutrient availability, genital organs and serum hormones in post-weaning piglets. Livestock Science, 144(1), pp.110-118.
[16] Pestka, J.J., 2007. Deoxynivalenol: toxicity, mechanisms and animal health risks. Animal feed science and technology, 137(3), pp.283-298.
[17] Gardea-Torresdey, J.L., Peralta-Videa, J.R., De La Rosa, G. and Parsons, J.G., 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. Coordination chemistry reviews, 249(17), pp.1797-1810.
[18] Onsanit, S., Ke, C., Wang, X., Wang, K.J. and Wang, W.X., 2010. Trace elements in two marine fish cultured in fish cages in Fujian province, China. Environmental Pollution, 158(5), pp.1334-1342.
[19] Izanloo, H. and Nasseri, S., 2005. Cadmium removal from aqueous solutions by ground pine cone. Journal of Environmental Health Science & Engineering, 2(1), pp.33-42.
[20] Sanaee Gh. 2010. Industrial Toxicology. Tehran University Press. 2nd ed. Vol 1. (Tehran).
[21] Mihucz, V.G., Virág, I., Zang, C., Jao, Y. and Záray, G., 2007. Arsenic removal from rice by washing and cooking with water. Food chemistry, 105(4), pp.1718-1725.
[22] Khaniki, G.R. and Zozali, M.A., 2005. Cadmium and lead contents in rice (Oryza sativa) in the North of Iran. International Journal of Agriculture Biology, 6, pp.1026-1029.
[23] Batista, B.L., Nacano, L.R., de Freitas, R., de Oliveira-Souza, V.C. and Barbosa, F., 2012. Determination of essential (Ca, Fe, I, K, Mo) and toxic elements (Hg, Pb) in Brazilian rice grains and estimation of reference daily intake. Food and Nutrition Sciences, 3(01), p.129.
[24] Huang, Z., Pan, X.D., Wu, P.G., Han, J.L. and Chen, Q., 2013. Health risk assessment of heavy metals in rice to the population in Zhejiang, China. PloS one, 8(9), pp: 1-6.
[25] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Food and feed stuffs: 2012. Determination of aflatoxins B&G by HPLC method using immunoaffinity column clean

Journal of Toxicological Sciences, 4(1), pp.31-35.
[35] Mazaheri, M., 2009. Determination of aflatoxins in imported rice to Iran. Food and Chemical Toxicology, 47(8), pp.2064-2066.
[36] Mosayebi, M. and Mirzaee H. 2014. Determination of mycotoxin contamination and heavy metals in edible rice imported to Golestan province. Iranian Journal of Health and Environment, 6 (4), pp. 503-514.
[37] Aghili, S.R., Shokohi, T, Khosravi A.R, and Salmanian, B., 2012. Mycoflora Contamination of Consumed Rice in Mazandaran. Journal of Mazandaran university of medical science. 21 (86), pp: 280-286
[38] Lai, X., Liu, R., Ruan, C., Zhang, H. and Liu, C., 2015. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in rice samples from six provinces in China. Food Control, 50, pp.401-404.
[39] Cotty, P.J. and Jaime-Garcia, R., 2007. Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. International Journal of Food Microbiology, 119(1), pp.109-115.
[40] Reddy, K.R.N., Reddy, C.S. and Muralidharan, K., 2009. Detection of Aspergillus spp. and aflatoxin B1 in rice in India. Food Microbiology, 26(1), pp.27-31.
[41] Fu, J., Zhou, Q., Liu, J., Liu, W., Wang, T., Zhang, Q. and Jiang, G., 2008. High levels of heavy metals in rice (Oryzasativa L.) from a typical E-waste recycling area in southeast China and its potential risk to human health. Chemosphere, 71(7), pp.1269-1275.
[42] Dehghani, M., Mosaferi, F. and Alipour, V., 2016. Heavy Metals in the Imported and Iranian Rice Consumed in Hormozgan Province. Journal of health sciences and surveillance system, 4(3), pp.106-110.
[43] Amiri Qandashtani, R and Mohamadi Sani A., 2017. Heavy metals in rice samples on the Torbat-Heidarieh market, Iran. Food Additives & Contaminants: Part B, 10(1), pp.59-63.
[44] Ramezani, Z., Khodayar, M.J., Nazari, Z. and Hedayatifar, R., 2014. Ramezani, Z., Khodayar, M.J., Nazari, Z. and Hedayatifar, R., 2014. Cadmium and lead contents of rice (Oryza sativa) grown in Khuzestan, southwest of Iran. Jentashapir Journal of Health Research, 5(2), pp.65-71.
[45] Thornton, I., Rautiu, R. and Brush, S., 2001. Lead-the facts. IC Consultants Ltd, London, UK.
[46] Van Egmond, H.P., Schothorst, R.C. and Jonker, M.A., 2007. Regulations relating to mycotoxins in food. Analytical and bioanalytical chemistry, 389(1), pp.147-157.

Study of mycotoxins and heavy metals contamination in rice samples of Mazandaran province by HPLC and Atomic Absorption Spectrophotometry

Farahmandfar, R. [1*], Maryam Asnaashari [1], Salimeh Rashidaei Abandansari [2], Elahe Maghsoudlou [1]

1. Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Iran
2. Department of Food Science and Technology, Sari Branch, Islamic Azad University, Iran

(Received: 2017/09/26 Accepted:2018/04/11)

Rice is the main food in the diet of Iranian households that is exposed to mycotoxin and heavy metal contamination. The accumulation of these toxic compounds in the body leads to various diseases. Therefore, the present study was conducted to determine the contamination of rice in Mazandaran province. In this study, 40 rice samples from Mazandaran province were collected and evaluated for mycotoxin contamination (B_1 aflatoxins and total aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol) and heavy metals (lead, arsenic and cadmium). The amount of mycotoxins was measured by high performance liquid chromatography (HPLC) method and purified by immunoaffinity column (deoxynivalenol purification was performed using solid phase column). Arsenic measurement was carried out using hydride generation atomic absorption based optical spectroscopy technique, and measuring cadmium and lead was performed by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Generally, the results showed that the average of aflatoxins B_1, total aflatoxin, ochratoxin A, zearalenone and deoxynivalenol were 0.027, 0.36, 27.74, 13.70 and 55.4 ng/g, respectively. Lead in any of the samples was not observed and the mean concentration of cadmium and arsenic was 0.48 and 21.77 mg/kg, respectively. For all of mycotoxins, except ochratoxin A (in 25% of samples), samples were within the permitted limits of Iran national standards. However, 75% and 15% of the samples had high levels of arsenic and cadmium, respectively.

Keywords: Ochratoxin, Rice, Deoxynivalenol, Zearalenone, Heavy metals

* Corresponding Author E-Mail Address: r.farahmandfar@sanru.ac.ir