

بررسی میزان مایکو توکسین زیرالنون در گندم های انباری استان مازندران ۱۳۸۱

محمد تقی هدایتی (Ph.D.)⁺

چکیده

سابقه و هدف: دانه های گندم آلوده به زیرالنون (Zearalenone) می تواند باعث ایجاد مشکلات و اختلالات اندام های جنسی و تناسلی در حیوانات اهلی شود و در انسان به عنوان عامل بزرگی پستان در دختران جوان و بلوغ زودرس جنسی گزارش شده است. همچنین به نقش این توکسین در عدم توازن هورمونی و در نتیجه سرطان پستان در نواحی که آلودگی به زیرالنون بالا می باشد، نیز اشاره شده است. با توجه به اهمیت زیرالنون در به خطر انداختن سلامتی انسان و با در نظر گرفتن این موضوع که گندم به عنوان پر مصرف ترین غله در سطح کشور می باشد، در این بررسی میزان شیوع و مقدار زیر النون موجود در نمونه های گندم انبارهای استان مازندران مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها: مجموعاً ۱۱۸ نمونه گندم به طور تصادفی از ۱۲ انبار گندم استان مازندران برداشت گردید. تعداد نمونه های هر انبار بر اساس ظرفیت سالانه انبارها انتخاب گردید. هر نمونه حاوی یک کیلو گرم گندم بود. برای سنجش میزان زیر النون از روش ایمونواسی آنزیمی رقابتی با کمک میکروتیتربلیت هایی که از شرکت (Sigm- Riedel-de Haen) Aldrich laborchemikalien GmbH تهیه شده بود، استفاده گردید و دستورالعمل کارخانه سازنده به کار بسته شد.

یافته ها: ۸۰/۵ درصد نمونه ها به زیر النون آلوده بودند. ۶۴/۴۰ درصد نمونه ها حاوی $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ از زیر النون بودند، حداقل آلودگی نمونه ها به این سم $29 \mu\text{g}/\text{kg}$ بود و همه انبارها از نظر آلودگی به زیر النون مثبت بودند. به استثنای یکی از انبارها، ۵۰ تا ۱۰۰ درصد نمونه ها در هر انبار دارای آلودگی $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ از زیر النون بودند.

استنتاج: نتایج مطالعه شیوع و سطح بالای آلودگی به زیر النون را در نمونه های گندم نشان داد. بر اساس استاندارد ارائه شده به وسیله اداره استاندارد ایران، میزان مجاز زیرالنون در نمونه های گندم زیر $200 \mu\text{g}/\text{kg}$ می باشد؛ در حالی که در این بررسی $64/4$ درصد نمونه های گندم بیش تر از حد مجاز آلودگی به زیر النون داشتند. این موضوع می تواند برای جامعه خطرناک باشد.

واژه های کلیدی: گندم، مایکوتوکسین، الیزا

مقدمه

محصولاتی نظیر گندم، جو، ذرت و ذرت خوشه ای تولید می شود. قارچ های مولد زیرالنون جزء قارچ های انباری

زیرالنون، سمی استروژنیک می باشد که به وسیله قارچ فوزاریوم گرامیناروم و گونه های مرتبط بر روی

* مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط - دانشگاه علوم پزشکی مازندران
تاریخ تصویب: ۸/۴/۸۴

زیرالنون مشاهده نشده است (۷). در مطالعه Adb Alla (۱۹۹۷) از کشور مصر از ۴۰ نمونه گندم برداشت شده، ۱۲/۵ درصد نمونه‌ها آلوده به زیرالنون بودند. در این بررسی میانگین آلودگی ۸/۸ ppb بود (۸). Muller و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه بر روی نمونه های گندم مورد مصرف حیوانات در جنوب غربی آلمان، میزان شیوع ۱۳ تا ۳۷ درصد از آلودگی به زیرالنون با میانگین ۷۳ میکروگرم / کیلوگرم در نمونه‌های مثبت را گزارش نمودند (۹). در تنها مطالعه ای که به وسیله زمانی زاده و خورسندی در مازندران در سال ۱۳۷۴ انجام شده است، از ۳۷ نمونه دانه گندم که از مزارع آلوده به فوزاریوز خوشه برداشت شده بود، غلظت زیرالنون ۶/۴۲-۳ میلی گرم / کیلوگرم بود (۱۰). از آنجایی که گندم های وارداتی و تولید شده در داخل، قبل از مصرف مدت زمانی را در انبارها نگهداری می شوند و با توجه به اقلیم استان مازندران که شرایط بسیار مناسبی را برای رشد قارچ‌ها فراهم می‌نماید، در صورت عدم رعایت شرایط مناسب نگهداری، آلودگی دانه‌های غلات از جمله گندم به قارچ‌ها و توکسین های ناشی از آن می تواند به راحتی اتفاق افتد. لذا آلودگی گندم به عنوان پر مصرف ترین غله در ایران (۱۱) به عوامل تهدید کننده سلامتی نظیر توکسین های قارچ‌ها می بایستی در تحقیقات مورد توجه جدی قرار گیرد. از این رو، هدف از مطالعه حاضر تعیین آلودگی گندم های انباری به یکی از این عوامل پر خطر (توکسین قارچی زیرالنون) در انبارهای گندم استان مازندران بوده است.

مواد و روش ها

نمونه برداری

* دکترای قارچ شناسی (استادیار) عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
E تاریخ دریافت: ۳۰/۸/۸۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۳۱/۱/۸۴
محسوب می شوند. ذرت معمولاً در مرحله ذخیره سازی به وسیله قارچ فوزاریوم آلوده می شود؛ در حالی که محصولات نظیر گندم و جو عمدتاً در سطح مزرعه آلوده می شوند. درجه حرارت پایین و یا درجه حرارت های متناوب بالا و پایین و رطوبت مناسب، برای تولید زیرالنون مطلوب می باشد. نتایج برخی مطالعات نشان داده است که اگر رطوبت نمونه‌ها ۱۵ تا ۱۸ درصد باشد، تولید زیرالنون همراه با افزایش درجه حرارت تا مرز ۱۸ درجه سانتی گراد افزایش خواهد یافت (۱). اثرات این سم در حیوانات به خوبی مشخص شده است. مصرف ذرت، جو و دانه های گندم حاوی زیرالنون در حیوانات اهلی به ویژه خوک با اختلالات دستگاه تناسلی همراه می باشد (۲). علاوه بر آن اختلالات تولید مثلی نظیر نازایی، از بین رفتن جنین و سقط در خوک های ماده و کاهش حجم بیضه ها، کاهش قوای جسمانی و افزایش حجم غدد پستانی در خوک های نر به دنبال مصرف مواد غذایی آلوده به این توکسین نیز گزارش شده است (۳). مطالعاتی از ایتالیا و پورتوریکو احتمال ارتباط این سم را با بزرگی پستان دختران جوان و بلوغ زودرس جنسی در اثر مصرف ذرت آلوده به زیرالنون گزارش نموده اند (۴). همچنین اظهار شده است که زیرالنون می تواند نقشی در عدم توازن هورمونی و سرطان پستان در انسان در نواحی که مصرف زیرالنون بالا می باشد، داشته باشد (۵).

مطالعات متعددی در زمینه آلودگی غلات از جمله گندم به زیرالنون در مناطق مختلف جهان انجام شده است. Zakhavora (۱۹۹۴) از کشور روسیه از ۱۵۴ نمونه گندم طی سال های ۱۹۹۳-۱۹۹۴، تنها در سه نمونه گندم، زیرالنون را در به میزان پایین گزارش نمودند (۶). در بررسی Furlong و همکاران (۱۹۹۵) از ۱۸ نمونه گندم انبار شده در جنوب برزیل، هیچگونه آلودگی به

۱۱۸ نمونه گندم از ۱۲ کارخانه تولیدی آرد در استان مازندران که دارای انبار گندم بودند، جمع آوری گردید. نمونه برداری از تمامی انبارها طی دی ماه ۱۳۸۱ انجام گردید. با توجه به ظرفیت‌های اسمی سالانه هر انبار و به ازاء هر هزار تن یک کیلوگرم گندم از قسمت‌های مختلف انبار برداشت و پس از مخلوط کردن آن‌ها، ۱۰ نمونه یک کیلوگرمی از هر انبار انتخاب گردید. نمونه‌ها در داخل پاکت‌های از قبل استریل ریخته و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه تا زمان بررسی نمونه، در یخچال نگهداری گردید.

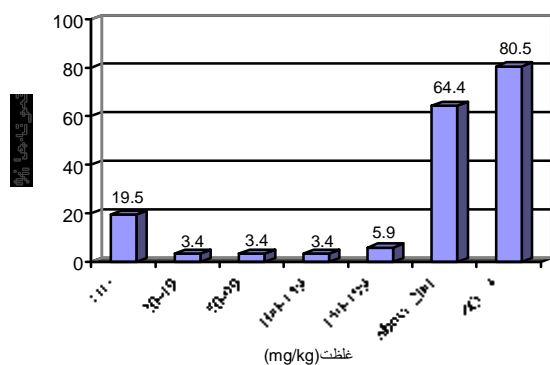
اندازه گیری زیرالنون در نمونه‌های گندم

برای اندازه گیری زیرالنون در نمونه‌های گندم از ایمونواسی آنزیمی با کمک کیت‌های تجاری Riedel-de Haen (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH) که برای اندازه گیری کمی زیرالنون طراحی شده است، استفاده گردید که به طور خلاصه به شرح زیر می باشد: ابتدا نمونه با آسیاب پودر گردید و سپس ۲ گرم از نمونه پودر شده با ۱۰ میلی لیتر متانول: آب (۷۰/۳۰) در لوله به وسیله دستگاه تکان دهنده (Shaker) استخراج گردید. سم موجود در فاز متانولی با اضافه کردن دی کلرو متان وارد فاز آلی گردید. این فاز خارج، تغلیظ و نهایتاً تحت بخار ازت خشک گردید. عصاره خشک شده در متانول حل و توسط بافر استاندارد نمونه رقیق شد. عصاره رقیق شده و استانداردها به چاهک‌های حاوی آنتی بادی منتقل و سپس کونژوگه اضافه شد. پس از آن به مدت یک ساعت در هوای اطاق نگهداری گردید. چاهک‌ها شست و شو شده و در مرحله بعد کروموزن (پراکسید اوره) اضافه شد. پلیت‌ها برای ۴۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و پس از آن محلول متوقف کننده اضافه شد. پلیت‌ها در طول موج ۴۵۰

نانومتر و در مقابل بلانک هوا توسط الیزا ریدر قرائت گردید. میزان بازیافت که بر اساس مشخصات اعلام شده در روش شرکت برای غلات ۶۰ تا ۹۰ درصد بود، تنظیم گردید. غلظت آلودگی نمونه‌ها بر اساس منحنی استاندارد تعیین گردید.

یافته‌ها

نمودار شماره ۱، طیف آلودگی نمونه‌ها به زیر النون را در انبارهای مورد مطالعه نشان می‌دهد. در ۸۰/۵ درصد نمونه‌ها آلودگی به زیرالنون مشاهده گردید. ۶۴/۴ درصد نمونه‌ها دارای آلودگی بالای ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم بودند.



نمودار شماره ۱: توزیع زیرالنون در نمونه‌های گندم انباری استان مازندران در سال ۱۳۸۱ *ZO: Zearalenone Contamination

جدول شماره ۱، میزان آلودگی نمونه‌های گندم انباری به زیرالنون را در انبارهای مورد مطالعه نشان می‌دهد. در همه انبارها نمونه آلوده به زیرالنون وجود داشت. در انبارهای I, E و J تمامی نمونه‌ها آلوده به زیرالنون بودند. کم‌ترین تعداد نمونه آلوده در انبار H (۵۰ درصد) مشاهده گردید. حداقل آلودگی نمونه‌ها به زیر النون ۲۹ میکروگرم/کیلوگرم بود. در انبار J ۱۰۰ درصد نمونه‌ها

آلودگی بیش تر از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم داشتند. انبارها درصد آلودگی نمونه‌ها به زیرالنون به میزان بالاتر کم‌ترین درصد آلودگی (بالاتر از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم) در انبار H (۱۰ درصد) مشاهده گردید. در بقیه از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم، بیش از ۵۰ درصد بود.

جدول شماره ۱: سطح زیرالنون (میکروگرم/کیلوگرم) در گندم‌های انباری استان مازندران ۱۳۸۱

شماره انبارها	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰
A	ND*	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	>۲۰۰
B	>۲۰۰	۱۹۷/۱	>۲۰۰	ND	۱۵۳/۹	۱۵۳/۹	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND
C	۱۶۴/۹	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	ND
D	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	ND	ND	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰
E	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۴۱	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰
F	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	۱۸۳	۶۷	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۴۶	>۲۰۰
G	۶۷	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰
H	ND	۱۴۶	ND	>۲۰۰	ND	ND	ND	۵۴	۴۶	۱۶۰
I	۱۱۵	۱۲۱	۵۴	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰
J	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰
K	۱۰۱/۵	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۱۶۳/۷	ND	----
L	۲۹	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	----

* None detected

بحث

به‌وسیله اداره استاندارد ایران، حد مجاز زیرالنون در گندم زیر ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم می‌باشد. در مقایسه با مطالعات انجام شده بوسیله محققین دیگر، آلودگی بالای نمونه‌های گندم به زیرالنون در مطالعه حاضر بسیار مشهود می‌باشد. در مطالعه Vrabccheva و همکاران (۱۹۹۶) ۶۹ درصد نمونه‌ها به زیرالنون آلوده بودند و حداکثر میزان آلودگی ۱۲۰ میکروگرم/کیلوگرم بود (۱۲). در حالی که در مطالعه حاضر ۸۰/۵ درصد نمونه‌ها آلوده به زیرالنون بودند. در مطالعه Abd Alla (۱۹۹۷) در کشور مصر از ۴۰ نمونه گندم برداشت شده، ۱۲/۵ درصد نمونه‌ها آلوده به زیرالنون بودند و میانگین آلودگی ۸/۸ میکروگرم/کیلوگرم بود (۸). Muller و همکاران (۲۰۰۱) نیز در مطالعه شان شیوع ۱۳ تا ۳۷ درصد از آلودگی به زیرالنون را در نمونه‌های گندم مورد مصرف حیوانات در جنوب غربی آلمان گزارش نمودند. در این مطالعه

برای اندازه گیری انواع مایکوتوکسین از روش‌های مختلفی نظیر کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) و روش‌های سنجش ایمنولوژیک استفاده شده است. در مطالعه حاضر برای اندازه‌گیری زیرالنون روش سنجش ایمنولوژیک (الیزا) به کار بسته شد. روش الیزا از نظر تکرار پذیری، سادگی، انتخابی بودن، حساسیت، سرعت و هزینه روش بسیار مناسبی برای سنجش مایکو توکسین‌ها در محصولات غذایی گزارش شده است (۱).

مطالعه حاضر نشان داد که تمامی انبارهای مورد مطالعه دارای نمونه‌های گندم آلوده به زیرالنون می‌باشند، علاوه بر آن به استثنای یکی از انبارها (H)، در بقیه انبارهای مورد مطالعه، ۵۰ تا ۱۰۰ درصد نمونه‌های گندم دارای آلودگی بیش از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم زیرالنون بودند (براساس استاندارد ارائه شده

میانگین آلودگی ۷۳ میکروگرم/کیلوگرم در نمونه‌های مثبت بود (۹). در حالی که در مطالعه حاضر ۶۴/۴ درصد نمونه‌ها آلودگی بیش از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم داشتند و شیوع آلودگی به زیرالنون در نمونه‌های گندم ۸۰/۵ درصد بود.

نمونه‌های گندمی که در مطالعه حاضر از نظر آلودگی به زیرالنون مورد بررسی قرار گرفتند، دقیقاً مشخص نبوده است که از محصولات برداشت شده از استان مازندران می‌باشد یا از دیگر استان‌ها و یا کشورهای دیگر وارد شده است. آلودگی دانه‌های غذایی انباری به توکسین‌های قارچی می‌تواند قبل از انبار شدن و یا در طول نگهداری در انبار اتفاق افتد. زیرالنون از سموم قارچی تولید شده به وسیله فوزاریوم گرامیناروم می‌باشد؛ گونه‌های فوزاریوم پاتوژن‌های مخرب گیاهی (بویژه گندم) می‌باشند که قبل و یا بلافاصله بعد از درو ایجاد توکسین می‌نمایند (۵).

بر اساس استاندارد ارائه شده بوسیله اداره استاندارد ایران میزان مجاز زیرالنون در نمونه‌های گندم مصرفی انسان زیر ۲۰ میکروگرم/کیلوگرم می‌باشد. بر این اساس ۶۴/۴ درصد نمونه‌های گندم در مطالعه حاضر بیش‌تر از حد مجاز آلودگی به زیرالنون را نشان دادند؛ با در نظر گرفتن این موضوع که گندم به‌عنوان پر مصرف‌ترین

غله در سطح کشور (۱۱) مطرح می‌باشد، شیوع بالای آلودگی به زیرالنون در نمونه‌های گندم از جنبه‌های مختلف می‌تواند مورد توجه جدی قرار گیرد. شایان ذکر می‌باشد که دانه‌های گندم می‌تواند به وسیله قارچ‌های توکسین زای متعددی در انبار و یا مزرعه مورد حمله قرار گیرند که پی‌آمد آن ایجاد توکسین‌های مختلف به ویژه آفلا توکسین، اوخرا توکسین و توکسین‌های مربوط به جنس فوزاریوم نظیر زیرالنون و فومونیسین می‌باشد که در به خطر انداختن سلامت انسان بسیار مورد توجه می‌باشند. از این رو توصیه می‌شود گندم وارداتی و تولید شده در داخل، قبل از ورود به انبار از نظر آلودگی احتمالی به انواع مایکوتوکسین‌ها غربالگری شوند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر با کمک مالی سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی استان مازندران به انجام رسیده است، لذا مراتب تقدیر و تشکر خود را از سازمان مزبور اعلام می‌نمایم. همچنین از آقایان معصومعلی موحدی، حمید بدلی و مهدی بهاور که در طول اجرای طرح، خدمات شایان توجهی داشتند قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

۱. علامه ع، رزاقی ایبانه م. مایکوتوکسین‌ها. تهران: موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه امام حسین. ۱۳۸۰ ص ۱۶۲-۱۸۳.
2. Pitt JI. Toxigeni fungi: which are important? *Medical mycology* 2000, 38 supplement 1, 17-22.
3. Marasas WFO, Nelson PE, Tousson TA. *Toxigenic Fusarium species: identity and*
4. Kuiper-Goodman T, Scott PM, Watanabe H. Risk assessment of the mycotoxin zearalenone. *Reg Toxicol pharmacol* 1987; 7:253-306.

mycotoxicology. Pennsylvania: Pennsylvania a state university press. 1984.

5. Pitt JI, Basilico JC, Abarca ML, Lopez C. Mycotoxins and toxigenic fungi. *Medical mycology* 2000, 38, supplements 1:41-46.
6. Zakharova LP. Fusarium toxins in the cereal crop in Russia (situation in 1993 and 1994). *Vopr Pitan* 1995:26.
7. Furlong EB, Soares LM, Lasca CC, Kohara EY. Mycotoxins and Fungi in wheat stored in elevators in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food Addit Contam* 1995 Sep-Oct; 12:683-8.
8. Abd Alla ES. Zearalenone: incidence, toxigenic fungi and chemical decontamination in Egyptian cereals. *Nahrung* 1997 Dec; 41:362-5.
9. Muller HM, Reimann J, Schumacher U, Schwadorf K. Further survey of the occurrence of Fusarium toxins in wheat grown in southwest Germany. *Arch Tierernahr* 2001, 54:173-82.
۱۰. زمانی زاده حمیدرضا و خورسندی هنگامه. گونه‌های فوزاریوم و مایکوکسین‌های آنها در گندم‌های استان مازندران. *بیماریهای گیاهی* ۱۳۷۴ شماره های ۴-۱ جلد ۳۱ صفحه ۳۸-۲۳
۱۱. خدابنده ن. *مخلات*. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۶۹ صفحه ۵۰۸
12. Vrabcheva T, Renate G, Ewald U, Erwin M. First survey on the natural occurrence of Fusarium mycotoxins in Bulgarian wheat. *Mycopathologia* 1996, 136: 47-52.