

## بررسی میزان مایکو توکسین زیرالنون در گندم های انباری استان مازندران ۱۳۸۴

<sup>+</sup>\* 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 سلطان 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 زیرالنون 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 زیرالنون از روش ایمونوآسی آنژیمی رقباتی با کمک میکروتیترپلیت هایی که از شرکت (Sigma-Riedel-de Haen) میباشد.

**یافته ها :** درصد نمونه ها به زیرالنون آلوده بودند. ۶۴/۰ درصد نمونه ها حاوی  $200 \mu\text{g}/\text{kg}$  > از زیرالنون بودند، حداقل آلودگی نمونه ها به این سم  $29 \mu\text{g}/\text{kg}$  بود و همه انبارها از نظر آلودگی به زیرالنون مثبت بودند. به استثنای یکی از انبارها،  $50$  تا  $100$  درصد نمونه ها در هر انبار دارای آلودگی  $200 \mu\text{g}/\text{kg}$  > از زیرالنون بودند.

**استنتاج :** نتایج مطالعه شیوع و سطح بالای آلودگی به زیرالنون 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  $64/۰$  درصد نمونه های گندم بیشتر از حد مجاز آلودگی به زیرالنون داشتند. این موضوع می تواند برای جامعه خطرناک باشد.

**واژه های کلیدی :** گندم، مایکوتوكسین، الیزا

### مقدمه

زیرالنون، سمی استروژنیک می باشد که به وسیله محصولاتی نظیر گندم، جو، ذرت و ذرت خوشهای تولید می شود. قارچ های مولد زیرالنون جزء قارچ های انباری

قارچ فوزاریوم گرامیناروم و گونه های مرتبط بر روی

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

\* دکترای فارج شناسی (استادیار) عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
تاریخ دریافت: ۸۳/۸/۳۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۴/۱/۳۱

زیرالنون مشاهده نشده است<sup>(۷)</sup>. 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<sup>(۸)</sup>.

Muller و همکاران (۲۰۰۱) در مطالعه بر روی نمونه‌های گندم مورد مصرف حیوانات در جنوب غربی آلمان، میزان شیوع ۳۷ تا ۱۳ درصد از آلودگی به زیرالنون با میانگین ۷۳ میکروگرم / کیلوگرم در نمونه‌های مثبت را گزارش نمودند<sup>(۹)</sup>.

در تنها مطالعه‌ای که به وسیله زمانی زاده و خورسندي در مازندران در سال ۱۳۷۴ انجام شده است، از ۳۷ نمونه دانه گندم که از مزارع آلوده به فوزاریوز خوش برداشت شده بود، غلظت زیرالنون ۳-۴۲/۶ میلی گرم / کیلوگرم بود<sup>(۱۰)</sup>.

از آنجایی که گندم‌های وارداتی و تولید شده در داخل، قبل از مصرف مدت زمانی را در انبارها نگهداری می‌شوند 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 توکسین‌های ناشی از آن می‌تواند به راحتی اتفاق افتد. لذا آلودگی گندم به عنوان پر مصرف ترین غله در ایران<sup>(۱۱)</sup> به عوامل تهدید کننده سلامتی نظری توکسین‌های قارچ‌ها می‌باشد در تحقیقات مورد توجه جدی قرار گیرد. از این رو، هدف از مطالعه حاضر تعیین آلودگی گندم‌های انباری به یکی از این عوامل پر خطر (توکسین قارچی زیرالنون) در انبارهای گندم استان مازندران بوده است.

## مواد و روش‌ها

نمونه برداری

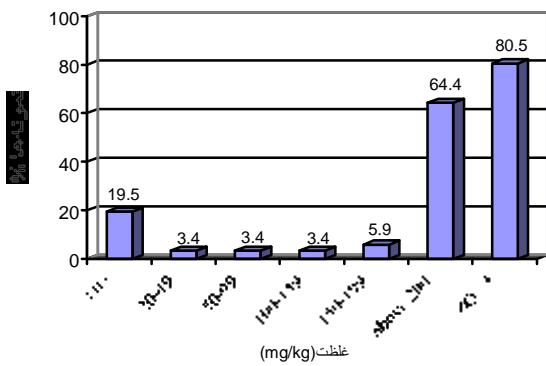
محسوب می‌شوند. ذرت معمولاً در مرحله ذخیره سازی به وسیله قارچ فوزاریوم آلووده می‌شود؛ در حالی که محصولاتی نظیر گندم و جو عمده‌تا در سطح مزرعه آلووده می‌شوند. درجه حرارت پایین و یا درجه حرارت‌های متناسب بالا و پایین و رطوبت مناسب، برای تولید زیرالنون مطلوب می‌باشد. نتایج برخی مطالعات نشان داده است که اگر رطوبت نمونه‌ها ۱۵ تا ۱۸ درصد باشد، تولید زیرالنون همراه با افزایش درجه حرارت تا مرز ۱۸ درجه سانتی گراد افزایش خواهد یافت<sup>(۱)</sup>. اثرات این سم در حیوانات به خوبی مشخص شده است. مصرف ذرت، جو و دانه‌های گندم حاوی زیرالنون در حیوانات اهلی به ویژه خوک با اختلالات دستگاه تناسلی همراه می‌باشد<sup>(۲)</sup>. علاوه بر آن اختلالات تولید مثلی نظیر نازایی، از بین رفتان جنین و سقط در خوک‌های ماده و کاهش حجم ییسه‌ها، کاهش قوای جسمانی و افزایش حجم غدد پستانی در خوک‌های نر به دنبال مصرف مواد غذایی آلووده به این توکسین نیز گزارش شده است<sup>(۳)</sup>. 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<sup>(۴)</sup>. 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<sup>(۵)</sup>.

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

نانومتر و در مقابل بلاتک هوا توسط الیزاریدر قرائت گردید. میزان بازیافت که بر اساس مشخصات اعلام شده در روش شرکت برای غلات ۶۰ تا ۹۰ درصد بود، تنظیم گردید. غلظت آلدوجی نمونه ها بر اساس منحنی استاندارد تعیین گردید.

### یافته ها

نمودار شماره ۱، طیف آلدوجی نمونه ها به زیرالنون را در انبارهای مورد مطالعه نشان می دهد. در ۸۰/۵ درصد نمونه ها آلدوجی به زیرالنون مشاهده گردید. ۶۴/۴ درصد نمونه ها دارای آلدوجی بالای ۲۰۰ میکرو گرم / کیلو گرم بودند.



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

جدول شماره ۱، میزان آلدوجی نمونه های گندم انباری به زیرالنون را در انبارهای مورد مطالعه نشان می دهد. در همه انبارها نمونه آلدوده به زیرالنون وجود داشت. در انبارهای I,E,J تعداد نمونه آلدوده در انبار H (۵۰ درصد) مشاهده گردید. حداقل آلدوجی نمونه ها به زیرالنون ۲۹ میکرو گرم / کیلو گرم بود. در انبار J ۱۰۰ درصد نمونه ها

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 ظرفیت های اسمی سالانه هر انبار و به ازاء هر هزار تن یک کیلو گرم گندم از قسمت های مختلف انبار برداشت و پس از مخلوط کردن آن ها، ۱۰ نمونه یک کیلو گرمی از هر انبار انتخاب گردید. نمونه ها در داخل پاکت های از قبل استریل ریخته و به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه تا زمان بررسی نمونه، در یخچال نگه داری گردید.

اندازه گیری زیرالنون در نمونه های گندم برای اندازه گیری زیرالنون در نمونه های گندم از 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 با فر استاندارد نمونه رقیق شد. عصاره رقیق شده و استانداردها به چاهک های حاوی آنتی بادی منتقل و سپس کونژوگه اضافه شد. پس از آن به مدت یک ساعت در هوای اطا نگه داری گردید. چاهک ها شست و شو شده و در مرحله بعد کروموزن (پراکسید اوره) اضافه شد. پلیت ها برای ۴۵ دقیقه در دمای اطا نگه داری و پس از آن محلول متوقف کننده اضافه شد. پلیت ها در طول موج ۴۵۰

انبارها در صد آلدگی نمونه‌ها به زیرالنون به میزان بالاتر از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم، بیش از ۵۰ درصد بود.

آلودگی بیشتر از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم داشتند. کمترین درصد آلدگی (بالاتر از ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم) در انبار H (۱۰ درصد) مشاهد گردید. در بقیه

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

۱۰	۹	۸	۷	۶	۵	۴	۳	۲	۱	شماره انبارها
>۲۰۰	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND*	A
ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۱۰۳/۹	۱۰۵/۹	ND	>۲۰۰	۱۹۷/۱	>۲۰۰	B
ND	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	۱۶۴/۹	C
>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	ND	ND	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	D
>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۴۱	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	E
۴۶	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۶۷	۱۸۳	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	F
>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	۷۷	G
۱۶۰	۴۶	۵۴	ND	ND	ND	>۲۰۰	ND	۱۴۶	ND	H
>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	۵۴	۱۲۱	I
>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	J
-----	ND	۱۶۳/۷	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	۱۰۱/۵	K
-----	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	>۲۰۰	ND	>۲۰۰	>۲۰۰	۲۹	L

\* None detected

## بحث

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

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

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

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 ذکرمی‌باشد 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، اوخررا توکسین و توکسین‌های مربوط به جنس فوزاریوم نظیر زیرالنون و فومونیسین می‌باشد که در به خطر اندختن 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 مایکروتوکسین‌ها غربالگری شوند.

## سیاستگزاری

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 می‌نماییم. همچنین از آقایان معصومعلی موحدی، حمید بدله و مهدی بهادر که در طول اجرای طرح، خدمات شایان توجهی داشتند قدردانی می‌شود.

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 گرفته‌اند، 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 سوم قارچی تولید شده به وسیله فوزاریوم گرامیناروم می‌باشد؛ گونه‌های فوزاریوم پاتوژن‌های مخرب گیاهی (بویژه گندم) می‌باشند که قبل و یا بلاfacile بعد از درو ایجاد توکسین می‌نمایند (۵).

بر اساس استاندارد ارائه شده به وسیله اداره استاندارد ایران میزان مجاز زیرالنون در نمونه‌های گندم مصرفی انسان زیر ۲۰۰ میکروگرم/کیلوگرم می‌باشد. بر این اساس ۶۴/۴ درصد نمونه‌های گندم در مطالعه حاضر بیش تر از حد مجاز آلودگی به زیرالنون را نشان دادند؛ با در نظر گرفتن این موضوع که گندم به عنوان پر مصرف‌ترین

## فهرست منابع

1. علامه ع، رزاقی ابیانه م. *مایکروتوکسین‌ها*. تهران: موسسه چاپ و انتشارات دانشگاه امام حسین. ۱۳۸۰-۱۶۲ ص.
2. Pitt JI. Toxigenic 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.

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. *Nahrang* 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.
10. زمانی زاده حمیدرضا و خورستنی هنگامه. گونه‌های فوزاریوم و مایکوکسین‌های آنها در گندم‌های استان مازندران. بیماری‌های گیاهی ۱۳۷۴ شماره‌های ۱-۴ جلد ۳۱ صفحه ۲۳-۳۸
11. خدابنده ن. خلاصت. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۵۰۸ صفحه ۱۳۶۹
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.