ORIGINAL ARTICLE

Ochratoxin A (OTA) Determination in Wheat Flour Samples from Different Bakeries in Sari, Iran

Parisa Saberi-Hasanabadi[1],
Mohammad Shokrzadeh Lamuki[2],
Vahid Shahsavari[3],
Majid Saeedi[4],
Hamidreza Mohammadi[5]

[1] PhD student in Toxicology, Faculty of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] MSc student in Toxicology, Faculty of Pharmacy, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Associate Professor, Pharmaceutical Sciences Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received May 8, 2023 ; Accepted August 15, 2023)

Abstract

Background and purpose: Mycotoxins are secondary metabolites of fungi that have carcinogenic effects. Ochratoxin A (OTA) is a highly toxic mycotoxin that can contaminate wheat grains and flour under various conditions of production, storage, and maintenance. Considering the carcinogenicity and mutagenicity of this toxin, it is necessary to monitor the contamination of wheat flour used in bakeries and to prevent this product from entering the bread supply chain. The aim of this study was to identify and determine the amount of OTA in wheat flour consumed by bakeries in Sari, during 2017 using high performance liquid chromatography (HPLC) method.

Materials and methods: In this study, 30 samples of flour used in the preparation of lavash, barbari and sengak bread were collected from five different geographical areas of Sari (Mazandaran province) in 2017. The concentration of OTA was finally determined using HPLC device and through purification with an immunoaffinity column.

Results: No concentration of OTA was observed in any of the tested samples. The results were in compliance with the mentioned reference values of OTA concentration in bakery products based on the Iranian National Standard Organization.

Conclusion: Based on the results, the flour used in breads is safe in terms of OTA. This amount is in accordance with the permissible limits set by the Iranian National Standard Organization and is acceptable for consumption.

Keywords: Ochratoxin A (OTA), wheat flour, bread, high performance liquid chromatography (HPLC)

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (225): 174-184 (Persian).

Corresponding Author: Hamidreza Mohammadi- Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره ۲۲۵ مهر سال ۱۴۰۲ (۱۸۴-۱۷۴)

بررسی میزان اکراتوکسین (A) در آرد گندم مصرفی نانوایی‌های شهر ساری با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

پریسا صابری حسن آبادی[۱]
محمد شکرزاده لموکی[۲]
وحید شهسواری[۳]
مجید سعیدی[۴]
حمیدرضا محمدی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: مایکوتوکسین‌ها متابولیت ثانویه قارچ‌ها هستند و دارای اثر سرطانزایی می‌باشند. اکراتوکسین(A) یکی از مایکوتوکسین‌هایی است که باعث آلودگی گندم و آرد حاصل از آن بسته به شرایط مختلف تولید، نگهداری و ذخیره می‌گردد. با توجه به سرطان‌زایی و جهش‌زا بودن این سم، پایش آلودگی آرد گندم مصرفی در نانوایی‌ها و جلوگیری از ورود این محصول به زنجیرهٔ تأمین نان، امری ضروری است. هدف از این مطالعه شناسایی و تعیین مقدار اکراتوکسین(A) در آرد گندم مصرفی نانوایی‌های شهر ساری در سال ۱۳۹۶ با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعهٔ تجربی، ۳۰ نمونه از آرد مورد استفاده در تهیهٔ نان‌های لواش، بربری و سنگک از ۵ منطقهٔ جغرافیایی در سطح شهر ساری (استان مازندران) و در تابستان سال ۱۳۹۶، جمع‌آوری و غلظت اکراتوکسین(A) موجود در آن‌ها با استفاده از HPLC از طریق خالص‌سازی با ستون ایمونوافینیتی تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در هیچ‌یک از مجموع ۳۰ نمونه آرد برداشت شده، آلودگی به اکراتوکسین(A) مشاهده نشد. یافته‌های حاصل، در انطباق با غلظت قابل قبول ذکرشده از اکراتوکسین(A) در استاندارد ملّی ایران بود.

استنتاج: با توجه به حجم بسیار زیاد نان مصرفی در سطح جامعه و با تکیه بر نتایج حاصل از این مطالعه، آرد مورد استفاده در تهیهٔ نان در نانوایی‌های مورد بررسی به عنوان مادهٔ اولیهٔ ایمن از نظر میزان اکراتوکسین(A) مطابق با حدود مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملّی ایران بوده و قابل قبول برای مصرف است.

واژه های کلیدی: اکراتوکسین(A)، آرد گندم، نان، کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا

مقدمه

گندم به دلیل تأمین بخش اعظم آرد مورد استفاده برای تهیهٔ نان در اغلب جوامع از جمله ایران از مهم‌ترین گونهٔ غلات به شمار می‌رود. امکان آلودگی گندم به سموم قارچی (مایکوتوکسین‌ها) بسته به شرایط مختلف تولید و نگهداری آن متغیر است. نگهداری نامناسب آرد منجر به کاهش کیفیت نان و خطر آلودگی آن به انواع سموم قارچی می‌شود(۱).

اکراتوکسین، یکی از مهم‌ترین مایکوتوکسین‌هایی

مولف مسئول: حمیدرضا محمدی- ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح‌آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی E-mail: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir
۱. دانشجوی دکتری تخصصی سم شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، کمیتهٔ تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، گروه فارماکولوژی و سم شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد سم شناسی، دانشکدهٔ داروسازی، کمیتهٔ تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استاد، گروه فارماسیوتیکس، مرکز تحقیقات علوم داروئی، پژوهشکدهٔ هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشیار مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۴۰۲/۲/۱۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۴۰۲/۲/۲۷ تاریخ تصویب : ۱۴۰۲/۵/۲۳

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

است که به‌دنبال رشد برخی قارچ‌ها از جنس پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس تولید می‌شود. جنس‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم از قارچ‌های معمول انباری هستند که در طی مراحل مختلف انتقال و فرآوری بر روی محصول ظاهر می‌شوند. انواع اکراتوکسین‌ها شامل A، B، C هستند که در این میان اکراتوکسین نوع (A)، سمی‌ترین شکل آن بوده و به‌عنوان نوعی آلایندهٔ طبیعی در محصولات غذایی مورد مصرف انسان و حیوان مخصوصاً محصولاتی چون غلات و فرآورده‌های آن محسوب می‌شود(۲). این سم از گونهٔ نفروتوکسین‌ها است که باعث بروز صدمات جدی در کلیه،کاهش وزن، کاهش بهره‌وری خوراک و افزایش شیوع بیماری‌ها شده و همچنین توانایی سرکوب سیستم ایمنی را هم دارد. اکراتوکسین نوع(A)، ترکیبی نسبتاً مقاوم در برابر حرارت است که از طریق زنجیرهٔ غذایی به انسان منتقل می‌شود. غلات و فرآورده‌های آن از مهم‌ترین منابع آلودگی انسان به این نوع توکسین محسوب می‌شوند(۳). سم اکراتوکسین (A) به عنوان عامل اصلی نفروپاتی اندمیک بالکان (Balkan Endemic Nephropathy) در سال ۱۹۵۶ شناخته شده است. آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان نیز اکراتوکسین (A) را به‌عنوان یک نوع ترکیب سرطان‌زای ممکن برای انسان (B carcinogen) طبقه‌بندی کرده است(۴).

به دلیل انبارمانی گندم و آرد حاصل از آن و نیز رطوبت زیاد استان مازندران، شرایط جهت رشد و توسعهٔ قارچ‌های مایکوتوکسینی بیش از پیش مناسب است. حدّ مجاز این ترکیب در غلات و فرآورده‌های آن برپایهٔ استاندارد سازمان بهداشت جهانی و استاندارد ملّی ایران به ترتیب ۱۰ (نانوگرم برگرم) و ۵ (نانوگرم برگرم) است(۵). مطالعات متعددی در کشورهای مختلف جهان بر روی آلودگی غلات و محصولات مختلف تهیه شده از آن از جمله نان به اکراتوکسین(A) صورت گرفته است(۸-۶). لیکن محدودیت پژوهش‌های جامع در این زمینه در ایران بیش‌تر به چشم می‌خورد. در یک مطالعه، تحقیقات بر روی سم اکراتوکسین(A) در نان‌های مصرفی شهرکرد در سال (۱۳۹۰) با استفاده از روش ایمونولوژیک الایزا مشخص نمود که سطح آلودگی به اکراتوکسین(A) در بخشی از نمونه‌ها بیش‌تر از حدمجاز استاندارد ملّی است(۹). هم‌چنین مشخص شده که میزان این سم در گندم‌های وارداتی به استان مازندران در محدوهٔ مجاز است(۱۰).

باتوجه به سرطان‌زایی و جهش‌زا بودن سموم قارچی، پایش مداوم آلودگی گندم و آرد حاصل از آن به منظور ممانعت از ورود مواد اولیه با کیفیت پایین و خطرناک به زنجیرهٔ تأمین نان، ضروری است. باتوجه به گسترش استفاده از نان‌های سنتی و صنعتی در کشور ما، در مطالعهٔ حاضر به ارزیابی دقیق آلودگی آرد مصرفی در تهیهٔ نان (به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین اقلام غذایی خانوارها) به اکراتوکسین (A) در سال (۱۳۹۶) در نانوایی‌های فعال در شهر ساری پرداختیم.

مواد و روش‌ها

مواد

استاندارد اکراتوکسین (A) به میزان (۱۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر) از شرکت فاروق (ایران) خریداری شد. در این مطالعه از فسفات هیدورژن دی سدیم بدون آب، فسفات دی- هیدروژن- پتاسیم، کلریدپتاسیم، بافر فسفات سالین، کلریدپتاسیم، اسیدنیتریک، استونیتریل، متانول، اسیداستیک، آب دیونیزه، هگزان نرمال ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد. سایر ترکیبات شیمیایی مورد استفاده هم دارای درجهٔ آزمایشگاهی و از شرکت سیگماآلدریچ تهیه شدند.

نمونه گیری

در مطالعهٔ تجربی حاضر، در مجموع، تعداد ۳۰ نمونه از انواع آرد مورد استفاده در تهیهٔ سه نوع نان شامل لواش، بربری و سنگک به شکل کاملاً تصادفی از نانوایی‌های ۵ منطقه در سطح شهر ساری در استان

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

مازندران(سال ۱۳۹۶) جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در شرایط مناسب و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان انجام مطالعه به صورت منجمد و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تهیهٔ بافر نمکی فسفات

به منظور تهیهٔ بافر نمکی فسفات با pH=۷/۴، ۰/۲ گرم کلریدپتاسیم، ۰/۲ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات بدون آب، ۲/۲ گرم دی هیدروژن فسفات ۷ آبه و ۸ گرم کلرورسدیم در ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و با استفاده از سود و یا اسیدکلریدریک ۰/۱ مولار، pH آن بر روی عدد ۷/۴ تنظیم شد و سپس محلول به حجم ۱ لیتر رسانده شد.

فاز متحرک HPLC

از مخلوط استونیتریل، آب مقطر دوبار یون‌زدایی‌شده و اسیداستیک گلاسیال به ترتیب به نسبت‌های حجمی (۹۹، ۹۹ و ۲) با سرعت جریان ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه پس از عبور از دستگاه فیلتراسیون حلال به عنوان فاز متحرک استفاده شد(۴).

رسم منحنی کالیبراسیون

محلول استاندارد ذخیرهٔ اکراتوکسین شامل ۱۰۰۰ نانوگرم از اکراتوکسین (A) در یک میلی‌لیتر حلال بنزن-اسیداستیک به نسبت حجمی ۹۹ قسمت بنزن و ۱ حجم اسید استیک تهیه شد. به منظور رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین رابطهٔ میان سطوح زیر منحنی پیک‌ها و غلظت‌های مختلف محلول استاندارد مصرفی اکراتوکسین (A)، غلظت‌های (ppb) ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ از محلول ذخیرهٔ استاندارد اکراتوکسین (A) تهیه و به دستگاه HPLC تزریق شد. در صورتی که نمونه‌هایی با غلظت‌های بالاتر از محدودهٔ خطی نمودار کالیبراسیون وجود داشته باشد، رقیق‌سازی باید به گونه‌ای صورت بپذیرد تا سیگنال نمونه در محدودهٔ خطی قرار بگیرد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: راهنمای آماده‌سازی محلول‌های استاندارد کالیبراسیون

استاندارد	حجم مورد نیاز از محلول استاندارد برای تهیه ۲ میلی لیتر از استاندارد کالیبراسیون بر حسب میکرولیتر	غلظت های نهایی اکراتوکسین Aدر استانداردهای کالیبراسیون بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر
B	۱۰۰	۱
C	۲۵۰	۲/۵
D	۵۰۰	۵
E	۷۵۰	۷/۵
F	۱۰۰۰	۱۰

آماده سازی نمونه

ما در این مطالعه، از ترکیب دو تکنیک الایزا و کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا جهت ردیابی اکراتوکسین موجود در آرد نمونه‌برداری شده از سطح نانوایی‌های شهر ساری استفاده کردیم. نمونه‌ها با کیت الایزا با نام تجاری (Neogen Europe، ساخت آلمان) و همچنین با استفاده از ستون‌های ایمونوافینیتی و دستگاه HPLC مورد آنالیز قرار گرفتند. پس از یکنواخت نمودن آنالیت مورد نظر، ۲۵ گرم از نمونه به اضافهٔ ۱ گرم نمک را دریک ظرف وزن کرده و محتویات ظرف را به مخلوط کن با دور زیاد منتقل نموده و با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال به مدت ۳ دقیقه مخلوط کردیم. عصارهٔ به‌دست آمده را توسط کاغذ صافی صاف نموده و ۱۰ میلی‌لیتر از عصارهٔ صاف شده با ۵۰ میلی‌لیتر بافر نمکی فسفات رقیق شد(۵).

استخراج و خالص‌سازی اکراتوکسین (A)

به منظور استخراج اکراتوکسین (A) از هریک از نمونه‌های آرد جمع‌آوری شده، ۱۰۰ میلی‌لیتر از مخلوط متانول و بافر به نسبت (۵۰:۵۰) به ۲۰ گرم از هر نمونه افزوده و در مخلوط‌کن به‌مدت ۲ دقیقه همزده و از کاغذ صافی عبور داده شدند. پس از افزودن ۳۰ میلی‌لیتر محلول بافر نمک فسفات به آن، ۲۰ میلی‌لیتر از هریک از محلول‌های زیرصافی ازستون‌های ایمونوافینیتی مخصوص اکراتوکسین (A) با سرعت ۲ تا ۳ میلی‌متر در دقیقه عبور داده شدند. ستون‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر آب شسته شده و سپس اکراتوکسین (A) را از هریک از ستون‌ها توسط ۳ میلی‌لیتر متانول مخصوص HPLC جدا نمودیم. نمونه‌ها در بافر نمکی فسفات حل شده و سپس توسط کیت الایزا مورد بررسی قرار گرفتند(۱۱-۹).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

تزریق، جداسازی، تشخیص و تعیین غلظت اکراتوکسین (A)

وجود اکراتوکسین(A) در نمونه‌های آرد با تکنیک مقایسهٔ مستقیم و استفاده از استاندارد خارجی تأیید و غلظت اکراتوکسین(A) از منحنی کالیبراسیون HPLC و بر حسب نانوگرم بر میلی‌لیتر تعیین شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود. غلظت اکراتوکسین در نمونه‌ها بر حسب نانوگرم بر گرم آرد محاسبه شد. جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار به ترتیب با استفاده از روش فاز معکوس، دتکتور فلورسانس با طول موج برانگیختگی ۳۳۳ نانومتر و نشر ۴۴۷ نانومتر و مقایسه سطح زیر پیک‌های استاندارد با نمونهٔ مجهول با احتساب ضریب رقت انجام شد.

صحت نتایج و درصد بازیافت

آزمون بازیافت از طریق آلوده‌سازی آرد گندم فاقد اکراتوکسین(A) با مقادیر مشخصی از این سم (به میزان ppb ۵) در سه تکرار انجام شد. در کنار آن نمونهٔ فاقد آلودگی به عنوان نمونهٔ شاهد قرار داده شد و هردو نمونه به روش HPLC تجزیه شدند. میزان بازیافت با مقایسه مقدار اکراتوکسین(A) افزوده شده با مقدار اندازه‌گیری شده، تعیین شد. مقادیر درصد بازیافت را با جدول شماره ۲ مقایسه کردیم. چنان‌چه میزان محاسبه شده در محدودهٔ اعلام شده در جدول قرار بگیرد، نسبت به صحت آزمون اطمینان حاصل نموده و نتایج اعلام خواهد شد و درغیر این صورت نسبت به تکرار آزمون اقدام کردیم(۱۰،۵).

ارزیابی آماری

محاسبات آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. به منظور مقایسهٔ میانگین سطوح اکراتوکسین(A) در نمونه‌های آرد با حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملّی ایران (به میزان ۵ میکروگرم بر کیلوگرم) از آزمون T-تک نمونه‌ای استفاده شد.

یافته ها

جداول شماره ۳ و۴ ترتیب تکرارپذیری و تجدیدپذیری نتایج و درصد بازیافت اکراتوکسین نوع (A) آرد را در ۵ غلظت مختلف نشان می‌دهند. غلظت اکراتوکسین در نمونه‌های آرد موردبررسی در جدول شماره ۵ ارائه شده است. نمونهٔ استاندارد اکراتوکسین به دستگاه HPLC تزریق شد. پس از محاسبهٔ سطوح زیر هر غلظت، منحنی کالیبراسیون رسم گردید و معادلهٔ خط به صورت Y=820517x+276802 تعریف شده و ضریب تعیین (R^2) هم به میزان ۰/۹۹۲ به‌دست آمد. در نمودار حاصل از غلظت‌های مختلف استاندارد اکراتوکسین به دستگاه، پیک مربوط به استاندارد اکراتوکسین (A) در حدود زمان بازداری ۷/۵ دقیقه خارج گردید.

جدول شماره ۲: درصد بازیافت قابل قبول بر حسب سطح آلودگی

محدودهٔ غلظت (میکروگرم بر کیلوگرم)	درصد بازیافت قابل قبول
کم‌تر از ۱	۵۰-۱۲۰
۱-۱۰	۷۰-۱۱۰
بیش‌تر از ۱۰	۸۰-۱۱۰

جدول شماره ۳: درصد بازیافت اکراتوکسین(A) در ۵ غلظت مختلف از نمونه‌های آرد

فرآورده	مقدار اکراتوکسین (A) به‌دست آمده	مقداراکراتوکسین (A) افزوده شده	بازیافت (درصد)
آرد گندم	۰/۷۵	۱	۷۵
آرد گندم	۲/۲	۲/۵	۸۸
آرد گندم	۴/۷۵	۵	۹۵
آرد گندم	۷/۱	۷/۵	۱۰۱
آرد گندم	۹/۳	۱۰	۱۰۸

جدول شماره ۴: بررسی ظاهری و میزان آلودگی به اکراتوکسین (A) برحسب (pbb) در نمونه‌های آردگندم در نانوایی های مورد بررسی

ردیف	نوع آزمون	شرح آزمون	نتیجه آزمون آرد سنگک (۶ نمونه)	نتیجه آزمون آرد لواش (۱۵ نمونه)	نتیجه آزمون آرد بربری (۹ نمونه)	حدود قابل قبول (ppb)	مرجع
۱	حسی و ظاهری	رنگ ظاهری و حالت	کِرم جامد	کرم جامد	کرم جامد	....	استاندارد ملی ایران به شماره (۹۲۳۸) و استاندارد (۵۹۹۲).
۲	آزمون شیمیایی	اکراتوکسین (A)	غیرقابل تشخیص در همهٔ نمونه‌ها	غیرقابل تشخیص در همهٔ نمونه‌ها	غیرقابل تشخیص در همهٔ نمونه‌ها	بیشینهٔ غلظت: pbb۵	

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

جدول شماره ۵: غلظت اکراتوکسین(A) در نمونه‌های آرد جمع‌آوری شده از سطح نانوایی های شهر ساری در استان مازندران با استفاده از روش HPLC و الایزا

ردیف	نمونه	الایزا	HPLC (ppb)
۱	S1	ND	ND
۲	S2	ND	ND
۳	S3	ND	ND
۴	S4	ND	ND
۵	S5	ND	ND
۶	S6	ND	ND
۷	S7	ND	ND
۸	S8	ND	ND
۹	S9	ND	ND
۱۰	S10	ND	ND
۱۱	S11	ND	ND
۱۲	S12	ND	ND
۱۳	S13	ND	ND
۱۴	S14	ND	ND
۱۵	S15	ND	ND
۱۶	S16	ND	ND
۱۷	S17	ND	ND
۱۸	S18	ND	ND
۱۹	S19	ND	ND
۲۰	S20	ND	ND
۲۱	S21	ND	ND
۲۲	S22	ND	ND
۲۳	S23	ND	ND
۲۴	S24	ND	ND
۲۵	S25	ND	ND
۲۶	S26	ND	ND
۲۷	S27	ND	ND
۲۸	S28	ND	ND
۲۹	S29	ND	ND
۳۰	S30	ND	ND

ND=Not Detected

بحث

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این مطالعه که بر روی آرد مصرفی نانوایی‌های شهر ساری (شامل ۱۵ نمونه آرد نان لواش، ۹ نمونه آرد نان بربری، ۶ نمونه آرد نان سنگک) در سال (۱۳۹۶) صورت گرفت، مشخص شد که هیچ‌یک از نمونه‌های موردمطالعه، آلوده به اکراتوکسین(A) نبودند. نان از رایج‌ترین محصولات تهیه شده از غلات است. این محصول غذایی به دلیل خصوصیات غنی تغذیه‌ای، محل مناسبی برای رشد و تکثیر اُرگانیسم‌های مختلفی چون قارچ‌ها است. این ارگانیسم‌ها در شرایط سخت قادر به زندگی بوده و در بیشتر مواقع می‌توانند خود را با شرایط نامناسب نیز وفق دهند. این خصوصیت قارچ‌ها مربوط به تولید برخی متابولیت‌های ثانویه در آن ها است. ازجمله مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویهٔ قارچی می‌توان به مایکوتوکسین‌ها و اکراتوکسین‌ها اشاره نمود که در آلودگی غلات از نقش به‌سزایی برخوردار هستند. اکراتوکسین (A)، یکی از سمی‌ترین مایکوتوکسین‌های قارچی در سویه‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم است. اِسپور این قارچ‌ها به‌طور وسیعی در محیط پراکنده شده و بسیاری از موادغذایی خصوصاً غلات به آن‌ها آلوده می‌شوند. وجود میزان بالای کربوهیدرات و پروتئین در آرد آن را به محیط مناسبی جهت رشد قارچ‌های تولیدکننده سم اکراتوکسین (A) تبدیل کرده است(۱۱، ۱۲). تاکنون در ایران، مطالعات چندان جامعی بر شیوع اکراتوکسین (A) در گندم و یا آرد مورد استفاده در نانوایی‌ها انجام نشده است. در یک بررسی، بهفر و همکارانش در سال (۱۳۹۲) به شناسایی و تعیین مقدار اکراتوکسین(A) در آرد حاصل از کارخانه‌های تولید آرد از گندم در شهر اهواز با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا پرداختند. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که ۹۳/۷۵ درصد از نمونه‌ها (۳۰ مورد از ۳۲ نمونه آرد مورد بررسی) آلوده به اکراتوکسین(A) بوده و غلظت این سم در نمونه‌ها از ۰/۰۰۴تا ۰/۸۰۹ نانوگرم بر گرم متغیر بود(۴). سطح اکراتوکسن(A) در نمونه‌های مورد بررسی در این پژوهش کم‌تر از حد مجاز تعیین شده توسط مؤسسه استاندارد ملّی و تحقیقات صنعتی ایران (به میزان ۵ppb) بود(۵) و این نتایج مطابق با نتایج به دست آمده از مطالعهٔ ما است. در مطالعهٔ دیگر، غفوری و همکارانش (۱۴۰۰)، به شناسایی مولکولی گونه‌های قارچی و بررسی آلودگی آردهای توزیع شده به اکراتوکسین (A) در نانوایی‌های سطح شهر همدان پرداختند. در این پژوهش از ۶۰ نمونهٔ حاصل، ۲۸ نمونه آرد (۴۴/۶۶ درصد) فاقد آلودگی قارچی و ۳۲ نمونه آرد (معادل با ۵۳/۳۳ درصد) دارای آلودگی قارچی بیشتر از حدمجاز (10^4 کلونی در گرم) بودند. قارچ‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم در این میان از بیشترین فراوانی برخوردار بودند. فراوانی قارچ‌ها در آرد مورداستفاده در تهیهٔ نان‌های لواش، سنگک،

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

بربری، تافتون تنوری و ماشینی، باگت و نان گرده به ترتیب ۵۰، ۴۶، ۳۵، ۳۱، ۲۶، ۱۸ و ۱۱ درصد بود. بیش‌ترین مقدار اکراتوکسین (A) در آرد لواش (به میزان ۳/۹۸ppb) و کم‌ترین مقدار آن در آرد گرده (۰/۶۶ppb) گزارش شد. همچنین، ارتباط معناداری بین گونه‌های قارچی و میزان تولید اکراتوکسین مشاهده شد. پژوهشگران در این مطالعه دریافتند که روش‌های تعیین فنوتیپ و ژنوتیپ از حساسیت یکسانی در تعیین وجود اکراتوکسین در آردهای بررسی شده برخوردار نبودند. بنابراین، ضرورت پیشگیری از ایجاد و اصلاح شرایط انبارمانی آرد و گندم در این استان ضروری است. البته، استفاده از روش PCR به مراتب حساس‌تر از روش الایزا در تخمین نتایج کشت و تعیین توالی برخی نمونه‌های قارچی منتخب و مجهول در آرد مورد استفاده در نانوایی‌های استان همدان بود(۱۴،۱۳). نمونه‌های آرد مورد ارزیابی در مطالعهٔ ما مطابق با روش ذکرشده در استاندارد ملّی ایران به شماره ۹۲۳۸ با عنوان «غلات و فرآورده‌های آن» به کمک روش کروماتوگرافی مایع و خالص‌سازی آن با ستون ایمونوافینیتی انجام شد(۱۱). در حال حاضر، در کشور ما حد مجاز اکراتوکسین در غلات ۵ ppb است(۱۱). مطالعات انجام شده در مناطقی با شرایط مختلف آب وهوایی نشان داده که نوع و میزان آلودگی به مایکوتوکسین‌ها از وابستگی زیادی به شرایط اقلیمی منطقه برخوردار بود. در حال حاضر بهترین روش برای مقابله با اکراتوکسین‌ها، پیشگیری از شکل‌گیری و گسترش این نوع از آلودگی قارچی است(۱۵،۱). با تغییر دما، کاهش رطوبت نسبی هوا و کاهش محتوای آب سوبسترا تا حدود زیادی می‌توان از رشد قارچ و تولید سم جلوگیری کرد. در هر منطقهٔ جغرافیایی، شرایط اقلیمی در طی مراحل رشد محصول از اهمیت زیادی در تغییرات میزان مایکوتوکسین‌ها برخوردار است. در مجموع، شرایط محیطی، رطوبت بیش از حد، افزایش دما، خشکی، آفات، سامانه‌های برداشت محصول و روش‌های زراعی می‌تواند سبب آلودگی محصول به قارچ‌ها شود. هم‌چنین تفاوت در تعیین غلظت مایکوتوکسین‌ها در تحقیقات مختلف احتمالاً مرتبط با دامنهٔ زمانی مورد بررسی، نوسانات سالانهٔ آب و هوایی و شرایط انبارمانی است(۱۶). بنابراین، پایش مداوم محتوای رطوبتی محصول و محل انبارمانی به ویژه در مناطق مرطوبی چون استان مازندران بسیار ضروری است.

مطالعات متعددی نیز در سراسر جهان به بررسی میزان مایکوتوکسین‌ها در نان، آرد و سایر محصولات مبتنی بر غلات پرداخته‌اند.

Torović و همکارانش در سال (۲۰۱۸) در اسپانیا و Elaridi و همکارانش در سال (۲۰۱۹) در لبنان به بررسی فراوانی قارچ‌های آلوده‌کننده آردهای انبارشده از دو گونهٔ آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم پرداختند. آن‌ها نیز به این نتیجه رسیدند که شرایط نامناسب در نگهداری غلات می‌تواند زمینه‌ساز آلودگی این محصولات شود که در نهایت آلودگی آرد حاصل از آن ها را نیز به دنبال دارد(۱۶،۸). نتایج این مطالعه به نوعی تأییدکنندهٔ توان بالای زیستی و سازش‌پذیری آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم در شرایط سخت محیطی در سبب افزایش فراوانی این گونه‌های قارچی در آرد بود. هم‌چنین، ذخیرهٔ نامناسب و انبارداری غیراستاندارد گندم و آرد در محیط‌هایی با رطوبت بالا، زمینهٔ رشد تصاعدی این قارچ‌ها را فراهم کرده و سبب انتقال این توکسین‌های قارچی به آرد و سایر محصولات وابسته به غلات نیز شد(۱۶،۸). در همین راستا، مطالعات صورت گرفته توسط Schaarschmidt و Hassek در سال (۲۰۱۸) در آلمان نشان داد که روش سنجش آلودگی قارچی از مؤثرترین عامل در تفاوت گزارشات مربوط به گسترش این پدیده است. این پژوهشگران نشان دادند که استفاده از روش‌های اختصاصی مولکولی و کروماتوگرافی از حساسیت بسیار مناسبی در مقایسه با روش‌های عمومی فنوتیپی مثل کشت قارچی برخوردار بودند(۱۷).

در یک مطالعه، Şahin و همکارانش (۲۰۲۳) به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

ارزیابی سطوح دئوکسی نیوالنول و اکراتوکسین (A) با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در غلات فروخته شده در بازارهای ترکیه پرداختند. آن ها به این نتیجه رسیدند از آن‌جایی که قرار گرفتن در معرض دئوکسی نیوالنول و اکراتوکسین (A) را می‌توان به طور مکرر در غلات مشاهده کرد و ممکن است تا سطوح خطر احتمالی هم افزایش یابد، بنابراین باید اقدامات احتیاطی لازم به منظور به حداقل رساندن خطرات آلودگی انجام شود. میزان اکراتوکسین (A) در ۱۱ نمونه (۰/۸۷-۶/۹۷ میکروگرم بر کیلوگرم) شامل ۳ مورد از آرد ذرت (۱/۵-۲/۲۳ میکروگرم بر کیلوگرم) و ۸ نمونه از آرد گندم کامل (۰/۸۷-۶/۹۷ میکروگرم بر کیلوگرم) شناسایی شد (۱۸). در مقایسه با مطالعه انجام گرفته توسط ما این موضوع برجسته شد که میزان سم اکراتوکسین در نمونه‌های بررسی شده توسط ما کمتر از حد مجاز بود.

در مطالعه‌ای دیگر Zhou و همکارانش (۲۰۲۲) به ارزیابی آلودگی مایکوتوکسینی آرد گندم عرضه شده در شانگهای چین پرداختند. در مجموع، ۲۹۹ نمونه از آرد گندم به بازار عرضه شده در استان شانگهای چین از طریق روش کروماتوگرافی مایع همراه با طیف سنجی جرمی مورد بررسی و آنالیز قرار گرفتند. نرخ تشخیص مایکوتوکسین‌ها در آرد گندم از ۰/۷ تا ۷۴/۹ درصد متغیر بود و میانگین سطوح آلودگی آن ها در آرد گندم (۰/۲تا ۵۷/۶ میکروگرم در کیلوگرم) تعیین شد که حاکی از آلودگی بیشتر این نوع آردگندم در مقایسه با نمونه حاصل از بررسی ما بود(۱۹).

در یک مطالعه، فرهمندفر و همکارانش (۱۳۹۷)، میزان آلودگی مایکوتوکسین‌ها در گندم‌های وارداتی به استان مازندران را به کمک روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا بررسی و تعیین نمودند. در این پژوهش، نمونه‌های گندم وارداتی از کشورهای حوزهٔ دریای خزر از منظر میزان رطوبت و آلودگی به مایکوتوکسین‌ها (اکراتوکسین (A)، زیرالنون و دئوکسی‌نیوالنول) مورد ارزیابی قرار گرفتند. آلودگی مایکوتوکسین‌ها به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا و از طریق خالص‌سازی با ستون ایمونوافینیتی مشابه با بررسی حاضر در جهت تشخیص اکراتوکسین (A) و با استفاده از ستون فاز جامد برای ترکیباتی چون دئوکسی نیوالنون انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین اکراتوکسین (A)، زیرالنون و دئوکسی نیوالنول درگندم‌های وارداتی به ترتیب ۲/۲۴، ۱۳۳/۵ و ۱۸۱/۶ نانوگرم بر گرم بود. همهٔ نمونه‌ها در این پژوهش از نظر میزان مایکوتوکسین‌ها در محدودهٔ مجاز تعیین شده توسط استاندارد ملّی ایران و در حد قابل قبول برای مصرف ارزیابی شدند. از طرف دیگر، همبستگی میان رطوبت با اکراتوکسین (A) و زیرالنون ۰/۱۰۴ تعیین شد. پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که احتمالاً به دلیل محتوای کم رطوبت نمونه‌ها، شرایط مطلوب در جهت توسعهٔ قارچ در مراحل حمل و نقل و ذخیره‌سازی وجود نداشته و در نتیجه از تولید و تجمع بیش از حد مایکوتوکسین‌ها در نمونه‌های گندم جلوگیری شد(۱۰). عرفانی و همکارانش در پژوهشی دیگر به ردیابی سم اکراتوکسین (A) در نان‌های مصرفی شهرکرد در سال (۱۳۹۰) پرداختند. غلظت اکراتوکسین (A) در ۴۵ مورد از ۸۶ نمونه (به میزان ۵۲/۳ درصد) از نان‌های بررسی شده بین ۰/۱۹ تا ۱۰/۳۷ نانوگرم بر گرم متغیر بود. میانگین آلودگی در نمونه‌های آلوده ۳/۰۴ نانوگرم بر گرم به دست آمد. بیشترین آلودگی مربوط به نان تافتون ماشینی (با ۸۸/۸ درصد) و لواش (۸۱/۸ درصد) بود. بیشترین درصد آلودگی به اکراتوکسین (A) هم در نان لواش مشاهده شد (۵/۳۹ نانوگرم بر گرم). سطح آلودگی ۱۵ نمونه (۱۷/۴ درصد) از مجموع ۸۶ نان موردآزمون بیشتر از حد مجاز (۳ نانوگرم بر گرم) ذکرشده در استاندارد ملّی ایران بود(۹، ۱۱). این نتایج مغایر با داده‌های حاصل از مطالعهٔ ما بود. با توجه به اینکه نان، قوت غالب ایرانیان است و درصد بالایی از انرژی و مواد معدنی مورد نیاز انسان از این محصول

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

تأمین می‌شود، آلودگی آن می‌تواند در درازمدت بر سلامت مصرف‌کننده تأثیر نامطلوبی داشته باشد. بنابراین، رعایت اصول بهداشت و ایمنی در طی فرآیند نگهداری و حمل و نقل مواد اولیهٔ نان شامل گندم و آرد جهت کاهش آلودگی محصول توصیه می‌شود. همچنین مصرف سریع و به موقع آرد می‌تواند در کاهش آلودگی قارچی و توکسین‌های آن مؤثر باشد. پایش جامع، منظم و دقیق نمونه‌های گندم، آرد و نان‌های عرضه شده در سطح نانوایی‌های استان‌های مختلف کشور در بازهٔ زمانی معین پیشنهاد می‌گردد. با توجه به اهمیت نان در رژیم غذایی جامعه و همچنین پتانسیل بالای این محصول برای تجمیع توکسین‌های قارچی، نظارت دوره‌ای بر میزان مایکوتوکسین‌ها در این محصولات و آرد حاصل از گندم در طی انبارمانی، برنامه‌ریزی جامع در جهت ایجاد سامانه‌های عملیاتی مناسب به منظور پایش و کاهش آلودگی‌های قارچی و اقدامات کنترل کیفی بر گندم‌های وارداتی و نحوهٔ ذخیره آن ها امری ضروری محسوب می‌شود.

این یافته‌ها نشان دادکه آلودگی آرد گندم به مایکوتوکسین اکراتوکسین (A) در نانوایی‌های شهر ساری، حداقل در زمان جمع‌آوری نمونه‌ها اتفاق نیفتاده است. در راستای کنترل آلودگی‌های ناشی از اکراتوکسین (A)، سنجش مقادیر این سموم در انواع نان‌های سنتی و صنعتی، وضع مقررات بهداشتی در جهت تعیین حدمجاز این سموم در آرد و محصولات نانوایی، اتخاذ تدابیر لازم و پیشگیرانه برای جلوگیری از آلودگی‌های قارچی و توجه به اجرای روش‌های حذف و یا کاهش میزان اکراتوکسین‌ها در این محصولات ضروری بوده و لزوم پیگیری مسئولین ذیربط در کلیهٔ مراحل با هدف به حداقل رسانیدن آلودگی‌های قارچی، ضرورتی اجتناب‌ناپذیر است. پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی، اثر فرآوری آرد بر این سموم و ارتباط آن با میزان رطوبت و دمای محیط فرآوری با استفاده از روش های مختلف تشخیص مولکولی و معتبرسازی آن‌ها بررسی و با هم مقایسه شود. برای حفظ امنیت غذایی، پیشنهاد می‌شود که این نتایج به طور دوره‌ای بررسی و نظارت شوند. همچنین، برای اطمینان از سلامت مصرفی نان، می‌توان از روش‌هایی چون کنترل کیفیت مواد اولیه، استفاده از مواد اولیه با کیفیت بالا و ذخیره‌سازی مناسب آن ها هم استفاده کرد.

تضاد منافع

مؤلفان اظهار دارند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان نامهٔ آقای وحید شهسواری با کد اخلاق مصوب به شماره IR.MAZUMS.REC.1396.2487 از دانشگاه علوم پزشکی مازندران است. بنابراین، نویسندگان مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از کارکنان واحدهای دخیل در انجام این پروژه اعلام می‌دارند.

References

1. Majeed M, Khaneghah AM, Kadmi Y, Khan MU, Shariati MA. Assessment of ochratoxin A in commercial corn and wheat products. Curr Nutr Food Sci 2018; 14(2): 116-120.
2. Bryła M, Ksieniewicz-Woźniak E, Stępniewska S, Modrzewska M, Waśkiewicz A, Szymczyk K, et al. Transformation of ochratoxin A during bread-making processes. Food Control 2021; 125(1): 107950.
3. Annunziata L, Schirone M, Visciano P, Campana G, De Massis MR, Migliorati G. Determination of aflatoxins, deoxynivalenol, ochratoxin A and zearalenone in organic wheat

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

flour under different storage conditions. Int J Food Sci 2021; 56(8): 4139-4148.

4. Ravelo Abreu A, Rubio Armendáriz C, Gutiérrez Fernández AJ, Hardisson de la Torre A. Ochratoxin A in foods for human consumption: review. Nutr Hosp 2011; 26(6): 1215-1226.
5. Behfar A, Nazari Z, Heydari R. Identification and Determination of Ochratoxcin A Concentration in Wheat Flour of Flour Factories in The Ahvaz city Using HPLC. Jundishapur Sci Med J 2013; 12(2): 217-227 (Persian).
6. Karachaliou CE, Koukouvinos G, Pissaridi K, Ladikos D, Goustouridis D, Raptis I, Livaniou E, Kakabakos S, Petrou P. Fast and Accurate Determination of Minute Ochratoxin A Levels in Cereal Flours: Towards Application at the Field. Eng Proc 2022; 16(1): 14.
7. Luo S, Du H, Kebede H, Liu Y, Xing F. Contamination status of major mycotoxins in agricultural product and food stuff in Europe. Food Control 2021; 127: 108120.
8. Alborch L, Bragulat MR, Castellá G, Abarca ML, Cabañes FJ. Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. Food Microbiol 2012; 32(1): 97-103.
9. Torović L. Aflatoxins and ochratoxin A in flour: A survey of the Serbian retail market. Food Addit Contam Part B Surveill 2018; 11(1): 26-32.
10. Erfani M, Rahimi E, Afshari MA, Kachuei R. Detection of Ochratoxin A in bread samples in Shahrekord city, Iran, 2011-2012. Iran J Med Microbiol 2013; 7(3): 42-47 (Persian).
11. Farahmandfar R, Rashidaei Abandansari S, Maghsoudlou E, Asnaashari M. Determination of mycotoxin contamination in imported wheat to Mazandaran province by high performance liquid chromatography. Iran J Health Environ 2018; 11(1): 15-24 (Persian).
12. Institute of standards and Industrial Research of Iran. Foodstuffs-Cereal and cereal's products-Determination of ochratoxin A by HPLC method and immunoaffinity column clean up-Test method; ISIRI, NO.9238.1st ed. Institute of Standards and Industrial Research of Iran; 2010.(Persian).
13. Ringot D, Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. Chem Biol Interact 2006; 159(1): 18-46.
14. Ghafori S, Habibipour R, Bayat S. Molecular identification of fungal species and evaluation of Ochratoxin A contamination in spreading flour in Hamedan bakeries. Med J Tabriz Uni Med Sciences 2021; 43(3): 267-273 (Persian).
15. Food and Agriculture Organization Q2B. Validation of Analytical Procedures and Methods Validation-FDA. Available from: www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm122858.pdf.2000.
16. Osborne BG, Ibe F, Brown GL, Petagine F, Scudamore KA, Banks JN, et al. The effects of milling and processing on wheat contaminated with ochratoxin A. Food Addit. Contam 1996; 13(2): 141-153.
17. Elaridi J, Yamani O, Al Matari A, Dakroub S, Attieh Z. Determination of ochratoxin A (OTA), ochratoxin B (OTB), T-2, and HT-2 toxins in wheat grains, wheat flour, and bread in Lebanon by LC-MS/MS. Toxins 2019; 11(8): 471.
18. Schaarschmidt S, Fauhl-Hassek C. The fate of mycotoxins during the processing of wheat for human consumption.Compr Rev Food Sci 2018; 17(3): 556-593.
19. Şahin S, Eyupoğlu OE, Yaman M, Doğan TÇ, Korkmaz Bİ, Omurtag GZ. Investigation

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]

of the deoxynivalenol and ochratoxin A levels by high-performance liquid chromatography of cereals sold in the markets in Türkiye. Food Sci Technol 2023; 43(7): 1-9.

20. Zhou H, Xu A, Liu M, Yan Z, Qin L, Liu H, etal. Mycotoxins in wheat flours marketed in Shanghai, China: occurrence and dietary risk assessment. Toxins 2022; 14(11): 748.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-08]