

Original article

## A Survey on Ochratoxin A Contamination in Cookies and Biscuits in Amol, Iran in 2013

Mahsa Derakhshan<sup>1</sup>, Samaneh Rouhi<sup>2,3</sup>, Bita Khasi<sup>4</sup>, Fatemeh Zaboli<sup>5\*</sup>

1. MSc of Food Industry Engineering, Department Food Industry Engineering, School of Agriculture and Food Industry, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran.
2. PhD Student of Molecular Epidemiology of Bacteria, Student Research Committee, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
3. PhD Student of Molecular Epidemiology of Bacteria, Cellular & Molecular Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
4. MSc of Health Education, Student Research Committee, School of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.
5. Assistant Professor, Department Food Industry Engineering, School of Agriculture and Food Industry, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran.

**Corresponding Author:**

Fatemeh Zaboli, Islamic Azad University Ayatollah Amoli Branch, Amol, Iran.

Email: microbiol\_sci2013@yahoo.com

Received: 20 April 2016

Revised: 2 August 2016

Accepted: 4 September 2016

**ABSTRACT**

**Background & Objectives:** The presence of fungal toxins in food has a negative impact on human health. The aim of this survey was to assess the level of Ochratoxin A in cookies and biscuits.

**Materials and Methods:** The data were collected using 44 samples of cookies and biscuits randomly chosen from some food warehouses in Amol, Iran in 2013. Levels of Ochratoxin A were measured by ELISA method in July and August. Data were analyzed using t-test ( $p < 0.05$ ) through SPSS 18.

**Results:** The highest contamination rates in cookies and biscuits were found to be 100% and 81.8% in August, respectively. This means that the toxin in the contaminated samples exceeded the standard limits. Besides, there was no significant relationship between the months of collecting samples and contamination rate ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study demonstrated that Ochratoxin A rate in the examined products was beyond the legal limit. Regarding the consumption of cookies and biscuits among members of society, meeting the hygienic standards in order to control and prevent contamination of stored wheat with fungal toxins is of fundamental importance.

**Keywords:** Biscuits, Cookies, ELISA, Ochratoxin A

► **Citation:** Derakhshan M, Rouhi S, Khasi B, Zaboli F. A Survey on Ochratoxin A Contamination in Cookies and Biscuits in Amol, Iran in 2013. *Tabari J Prev Med.* Summer 2016;2(2):53-57.

## بررسی میزان آلودگی بیسکوئیت و کلوچه به اکراتوکسین A در شهر آمل در سال ۱۳۹۲، ایران

مهسا درخشان<sup>۱</sup>، سمانه روحی<sup>۲،۳</sup>، بیتا خاصی<sup>۴</sup>، فاطمه زابلی<sup>۵</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** وجود سموم قارچی در مواد غذایی بر سلامت انسانها تأثیر سوء دارد. هدف از این مطالعه، بررسی سنجش میزان آلودگی بیسکوئیت و کلوچه به اکراتوکسین A می‌باشد. **مواد و روش‌ها:** ۴۴ نمونه بیسکوئیت و کلوچه به‌طور تصادفی از انبارهای شهر آمل در استان مازندران (سال ۱۳۹۲) جمع‌آوری شد. سطح اکراتوکسین A در ماه‌های تیر و مرداد به روش الایزا اندازه‌گیری شد. اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS ۱۸ و t-test تجزیه و تحلیل شدند ( $P > 0.05$ ).

**یافته‌ها:** بیشترین میزان آلودگی در هر دو نوع نمونه بیسکوئیت و کلوچه به‌ترتیب ۱۰۰ درصد و ۸۱/۸ درصد و در مرداد ماه مشاهده شد. میزان سم در تمامی نمونه‌های آلوده بیشتر از حد مجاز استاندارد بود. همچنین ارتباط معناداری بین ماه جمع‌آوری نمونه‌ها و میزان آلودگی وجود نداشت ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** میزان اکراتوکسین A در محصولات بررسی‌شده بیشتر از حد مجاز بود. با توجه به مصرف بیسکوئیت و کلوچه در بین افراد جامعه، رعایت شرایط استاندارد بهداشتی در نگهداری گندم جهت کنترل و جلوگیری از آلودگی به سموم قارچی بسیار حائز اهمیت است.

**واژه‌های کلیدی:** اکراتوکسین A، الایزا، بیسکوئیت، کلوچه

۱. کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران
۲. دانشجوی دوره دکترای اپیدمیولوژی مولکولی باکتری‌ها، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۳. دانشجوی دوره دکترای اپیدمیولوژی مولکولی باکتری‌ها، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۴. کارشناسی ارشد آموزش بهداشت، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
۵. استادیار، گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاداسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

نویسنده مسئول: فاطمه زابلی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، آمل، ایران

پست الکترونیک:

microbiol\_sci2013@yahoo.com

دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱۸

اصلاحیه: ۱۳۹۵/۴/۲۰

ویراستاری: ۱۳۹۵/۶/۱۳

◀ **استناد:** درخشان، مهسا؛ روحی، سمانه؛ خاصی، بیتا؛ زابلی، فاطمه. بررسی میزان آلودگی بیسکوئیت و کلوچه به اکراتوکسین A در شهر آمل در سال ۱۳۹۲، ایران. مجله طب پیشگیری طبری، تابستان ۱۳۹۵؛ ۲(۲): ۵۷-۵۳.

## مقدمه

اکراتوکسین‌ها دسته‌ای از سموم قارچی هستند که به سه گروه A، B و C تقسیم می‌شوند. این گروه از سموم، توسط قارچ‌هایی از جنس پنی سیلیوم و اسپرژیلوس تولید می‌شود. اکراتوکسین A سمی‌ترین و شناخته‌شده‌ترین عضو این گروه می‌باشد (۱،۲). مؤسسه استاندارد ایران حداکثر میزان اکراتوکسین A را در خوراک انسان  $5 \text{ ng/g}$  تعیین کرده است. همچنین حد مجاز این سم طبق استاندارد اروپا در دانه غلات خام و محصولات فرآوری شده برای مصرف انسان به ترتیب  $5 \text{ ng/g}$  و  $3 \text{ ng/g}$  است (۲). مطالعه Juan و همکاران که در سال ۲۰۰۸ در کشور پرتغال به روش کرماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) انجام شد، نشان داد که از میان ۶۱ نمونه نان، ۱۲/۹ درصد از نان‌های تهیه شده از گندم و ۷۰ درصد از نان‌های جو، آلوده به اکراتوکسین A بودند (۳). در تحقیقی که Erfani و همکاران در سال ۲۰۱۳ روی ۸۶ نمونه نان در ایران به روش الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: ELISA) انجام دادند، مشخص شد که ۵۰ درصد از نمونه‌های نان مورد بررسی آلوده به اکراتوکسین A بودند (۴). همچنین Gholamour و Rouhi و Aziz در ایران با کمک روش الایزا در ایران گزارش دادند که از ۳۰ نمونه بیسکوئیت و کلوچه، ۹۳/۴ درصد به فومونیسین و ۸۶/۷ درصد به آفلاتوکسین آلوده بودند (۵). محصولات تهیه شده از آرد گندم به‌عنوان اصلی‌ترین منبع تغذیه انسان به شمار می‌روند؛ بنابراین آلودگی حاصل از آرد گندم به‌خصوص در مناطق مرطوب شمال کشور که در ماه‌های مختلف سال رطوبت را حفظ می‌کنند، باید مورد توجه قرار گیرد. هدف از این مطالعه، تعیین میزان آلودگی سم قارچی اکراتوکسین A در بیسکوئیت و کلوچه تولیدشده از آرد گندم در شهر آمل (استان مازندران، شمال ایران) بود.

## مواد و روش‌ها

در سال ۱۳۹۲، ۴۴ نمونه بیسکوئیت (۲۲ نمونه) و

کلوچه (۲۲ نمونه) به‌طور تصادفی در فصل تابستان طی ماه‌های تیر و مرداد جمع‌آوری شدند (در هر ماه ۱۱ نمونه بیسکوئیت و ۱۱ نمونه کلوچه). نمونه‌ها از انبارهای مواد غذایی و با اجازه‌ی صاحبان انبارها در شهر آمل (شمال ایران، استان مازندران) جمع‌آوری شدند. بعد از عصاره‌گیری (۲)، با استفاده از کیت تشخیصی الایزا رقابتی (AgraQuant® Mycotoxin, Singapore) میزان اکراتوکسین A در نمونه‌ها مورد سنجش قرار گرفت (مطابق با دستورالعمل کیت). تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با کمک نرم‌افزار SPSS ۱۸ و از آزمون آماری t-test جهت ارتباط بین ماه انبارداری و میزان آلودگی استفاده شد ( $P < 0.05$ ).

## نتایج

میزان آلودگی در نمونه‌های بیسکوئیت در مرداد ماه ۱۰۰ درصد مشاهده شد و تمامی ۱۱ نمونه آلوده به این سم بودند. همچنین میزان آلودگی در نمونه‌های کلوچه نیز در مرداد ماه بیشتر از تیر ماه بود و ۸۱/۸ درصد از نمونه‌های کلوچه در مرداد ماه آلوده به این سم بودند. میزان سم در تمامی نمونه‌های آلوده، بیشتر از حد مجاز استاندارد ایران مشاهده گردید. بین ماه جمع‌آوری نمونه‌ها و میزان آلودگی ارتباط معنادار وجود نداشت ( $P < 0.05$ ) (جدول ۱).

## بحث و نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر نمونه‌های بیسکوئیت و کلوچه آلوده به اکراتوکسین A بودند. Schaaf و همکاران در سال ۲۰۰۲ در اسپانیا و Gonzalez-Osnaya و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مجارستان، میزان اکراتوکسین را در نان تهیه‌شده از گندم صفر گزارش کردند (۶،۷). از ۴۴ نمونه بیسکوئیت و کلوچه تهیه‌شده از آرد گندم در این مطالعه، ۳۴ (۷۷/۲۷ درصد) مورد آلوده به این سم بودند. نتایج مطالعات حاضر و مقایسه آن با مطالعات مشابه نشان

جدول ۱: مقایسه میزان آلودگی در نمونه‌های بیسکوئیت و کلوچه در دو ماه تیر و مرداد

نوع نمونه	ماه نمونه برداری	تعداد نمونه (درصد آلودگی)	انحراف معیار $\pm$ میانگین	خطای استاندارد میانگین
بیسکوئیت	تیر	۱۱ (۶۳/۶ درصد)	۶/۳۲ $\pm$ ۱/۳۹	۴/۶۲
	مرداد	۱۱ (۱۰۰ درصد)	۹/۶۴ $\pm$ ۱/۰۴	۳/۴۶
	تیر	۱۱ (۶۳/۶ درصد)	۵/۳۴ $\pm$ ۱/۰۹	۳/۶۲
کلوچه	مرداد	۱۱ (۸۱/۸ درصد)	۵/۴۷ $\pm$ ۰/۸۱	۲/۷۰

می‌دهد، وضعیت آلودگی مواد غذایی در مناطق مختلف متفاوت است. علت این امر را میتوان به موقعیت جغرافیایی و آب و هوای متفاوت نسبت داد. علاوه بر آن سطح بهداشت و رعایت اصول کیفی در طول فرآیند برداشت غلات، نگهداری و حمل و نقل نیز نقش موثری در رشد قارچ بر روی غلات دارد. یکی دیگر از علل اختلاف بین نتایج مختلف در مطالعات، فرآیند آسیاب گندم و نگهداری صحیح آرد تا زمان مصرف می‌باشد که یکی از فاکتورهای موثر بر میزان آلودگی آرد به اکراتوکسین A است (۸). بیشترین میزان آلودگی در هر دو نوع نمونه بیسکوئیت و کلوچه جمع‌آوری شده از انبارها در مرداد ماه بود که به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۸۱/۸ درصد گزارش شد. مطالعات نشان داده است که میزان اکراتوکسین در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد پس از ۸ هفته بیشترین و در ۵ درجه سانتیگراد پس از ۲۰ هفته کمترین میزان را به خود اختصاص می‌دهد که نشان‌دهنده تأثیر شرایط نگهداری در انبار بر میزان آلودگی می‌باشد (۹). فاکتورهای مختلفی مانند رطوبت، درجه حرارت، زمان، میزان اکسیژن، آسیب‌های مکانیکی دانه، حضور قارچ‌ها، حضور اسپور و واکنش‌های میکروبیولوژیک، تولید مایکوتوکسین‌ها را در محصولات انبارشده تحت تأثیر قرار می‌دهند. تأثیر تمامی این موارد بر یکدیگر کاملاً مشخص نیست و آلودگی نمونه‌های کلوچه و بیسکوئیت در پژوهش حاضر، نشان‌دهنده وجود حداقل یک یا حتی تعدادی از عوامل آلوده‌کننده در گندم و یا آرد انبار شده است (۱۰، ۱۱).

میزان سم در تمامی نمونه‌های بررسی شده بیشتر از حد مجاز استاندارد ایران بود ( $> 5 \text{ ng/g}$ )؛ بنابراین برای کنترل حد مجاز سموم قارچی در غلات، باید در اجرای روش‌های حذف و به حداقل رساندن میزان این سموم دقت بیشتری شود. با توجه به مصرف بالای بیسکوئیت و کلوچه در میان افراد مختلف در ایران، لازم است که مطالعات بیشتری با محوریت دیگر انواع قارچ‌ها در غلات و وضع قوانین بهداشتی در تمامی مراحل تولید، انبار و توزیع محصولات بر طبق استانداردها و اصول کشاورزی صورت گیرد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه بخش پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی آیت الله آملی واحد آمل سپاسگزاری می‌گردد.

### حمایت مالی

مطالعه حاضر با حمایت‌های مالی دانشگاه آزاد اسلامی آیت الله آملی واحد آمل صورت گرفته است.

### ملاحظات اخلاقی

این پژوهش با رعایت کامل اصول اخلاقی انجام شده است.

### تضاد منافع

این مطالعه فاقد تضاد منافع می‌باشد.

## References

1. Salari R, Habibi Najafi MB, Boroushaki MT, Mortazavi SA, Fathi Najafi M. Aflatoxins and ochratoxin a contamination in Iranian red pepper after harvesting. *J Food Sci Technol* 2013; 41(10):47-57 (Persian).
2. Hashemi-Karouei M, Gholampour-Azizi I, Rouhi S, Tashayyo M. Effects of different temperatures and durations of heating on the reduction of Ochratoxin A in bread samples. *J Adv Environ Health Res* 2014; 2(4):209-14.
3. Juan C, Pena A, Lino C, Moltó J, Mañes J. Levels of ochratoxin A in wheat and maize bread from the central zone of Portugal. *Int J Food Microbiol* 2008; 127(1):284-9.
4. 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):42-7 (Persian).
5. Gholamour Azizi I, Rouhi S. The comparison of total fumonisin and total aflatoxin levels in biscuit and cookie samples in Babol City, Northern Iran. *Iran J Public Health* 2013; 42(4):422-7.
6. Gonzalez-Osnaya L, Soriano JM, Molto JC, Manes J. Dietary intake of ochratoxin A from conventional and organic bread. *Int J Food Microbiol* 2007; 118(1):87-91.
7. Schaaf GJ, Nijmeier SM, Maas RF, Roestenberg P, de Groene E, Fink-Gremmler J. The role of oxidative stress in ochratoxin A-mediated toxicity in proximal tubular cells. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1588(2):149-58.
8. Juan C, Zinedine A, Idrissi L, Mañes J. Ochratoxin A in rice on the Moroccan retail market. *Int J Food Microbiol* 2008; 126(1-2):83-5.
9. Abramson D. Development of molds, mycotoxins and odors in moist cereals during storage. In: Chelkowski J, editor. *Cereal grain: mycotoxins, fungi and quality in drying and storage*. 1<sup>th</sup> ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science Publishing; 1991. P. 119-42.
10. Lillehoj EB, Elling F. Environmental conditions that facilitate ochratoxin contamination of agricultural commodities. *Acta Agric Scand* 1983; 33(2):113-28.
11. Rizzo A, Eskola M, Atroshi F. Ochratoxin A in cereals, foodstuffs and human plasma. *Eur J Plant Pathol* 2002; 108(7):631-7.