

## تعیین میزان آفلاتوکسین B در نمونه‌های آرد گندم شهرستان چالوس (استان مازندران) به روش الیزا

فاطمه زابلی<sup>۱</sup>، عیسی غلامپور عزیزی<sup>۲</sup>، سمانه روحی<sup>۳</sup>، مهسا عظیمی<sup>۴</sup>

۱- استادیار قارچ شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی، آمل، ایران

۲- استادیار قارچ شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران

۳- دانشجوی دکتری باکتری شناسی، مرکز تحقیقات سلولی - مولکولی و میکروب شناسی، عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۴- دانشجوی دکتری باکتری شناسی، گروه میکروب شناسی، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران

۵- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی، آمل، ایران. ایمیل: microbial\_sci@yahoo.com، شماره موبایل:

۰۹۳۵۹۲۹۵۷۵

### چکیده

**زمینه و هدف:** مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه حاصل از قارچ‌ها می‌باشند و در شرایط مناسب در مواد غذایی و محصولات کشاورزی تولید و باعث آلودگی می‌شوند. خوردن محصول آلوده به مایکوتوکسین، باعث ایجاد بیماری‌های حاد و مزمن در انسان و حیوان می‌شود. آلودگی گندم بوسیله آفلاتوکسین می‌تواند نقش مهمی در تهدید سلامت انسان داشته باشد. هدف از این تحقیق تعیین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های آرد گندم شهرستان چالوس در استان مازندران به روش الیزا بوده است.

**روش بررسی:** در این تحقیق ۲۲ نمونه آرد گندم بصورت تصادفی، از نانوائی‌های شهرستان چالوس تهیه شد. نمونه‌های خام آرد گندم از لحاظ آلودگی به آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، به روش الیزا اندازه‌گیری شد. برای تجزیه و تحلیل آماری، از نرم افزار آماری SPSS16 و از آزمون میانگین و انحراف معیار استفاده شد.

**یافته‌ها:** طبق نتایج بدست آمده، همه ۲۲ نمونه آرد گندم مورد مطالعه، آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بودند؛ که در ۱۰ مورد، آلودگی بیشتر از حد مجاز استاندارد ایران مشاهده شد. ولی میزان بالاتر از استاندارد جهانی، در هیچ کدام از نمونه‌های آرد وجود نداشت (میزان مجاز طبق استاندارد ایران ۵ نانوگرم بر گرم و طبق استاندارد جهانی ۲۰-۱ نانوگرم بر گرم است). بیشترین و کمترین غلظت سم آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در آرد گندم خام، بترتیب ۱/۶ و ۱/۱ ppb بود.

**نتیجه‌گیری:** وجود آفلاتوکسین علاوه بر خسارت اقتصادی به صنعت، سلامت مصرف کنندگان محصولات را نیز به خطر می‌اندازد. برای همین کاهش آفلاتوکسین در مواد غذایی باید بعنوان جزئی کلیدی از برنامه‌های افزایش امنیت مواد غذایی بکار گرفته شود.

**واژه‌های کلیدی:** آفلاتوکسین B<sub>1</sub>، آرد گندم، چالوس، الیزا

## مقدمه

مطالعات مختلف حضور مایکوتوکسین‌ها را در

مواد غذایی نشان می‌دهد؛

Li و همکارانش در سال ۲۰۱۳ در چین گزارش نمودند که در ۲۳۸ نمونه غذایی شامل آرد گندم، ۱۳/۹ درصد آن‌ها به آفلاتوکسین آلوده بودند<sup>(۱۲)</sup>. هدایتی و محمدپور در سال ۲۰۰۵ طی بررسی ۱۱۸ نمونه گندم از انبارهای استان مازندران در شمال ایران، نشان دادند ۲/۵۴ درصد نمونه‌ها به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> آلوده بودند<sup>(۱۳)</sup>. Roohi و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در ایران نشان دادند که بین ۲۱ نمونه از آرد گندم از نانوائی‌های استان مازندران، شهرستان قائمشهر، ۴/۸ درصد توسط فومونیسین از (نوعی مایکوتوکسین تولید شده توسط فوزاریوم) آلوده شده بودند<sup>(۱)</sup>.

از آنجا که مصرف مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین، بیماری‌های مختلف و آسیب‌های اقتصادی در جامعه بشری ایجاد می‌کند، و با توجه به آب و هوای مرطوب استان مازندران که محیط مناسبی را جهت رشد قارچ و تولید مایکوتوکسین فراهم می‌کند، هدف از این تحقیق، بررسی میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های آرد گندم شهرستان چالوس در استان مازندران، به روش الیزامی باشد.

## روش بررسی

## نمونه‌گیری

در این مطالعه، ۲۲ نمونه از آرد گندم، بطور تصادفی طی سه هفته در فصل بهار، در ماه خرداد سال ۱۳۹۱، از ۲۲ نانوائی در شهرستان چالوس (شمال ایران، استان مازندران) جمع‌آوری شد، و از نظر وجود آفلاتوکسین B<sub>1</sub> مورد سنجش قرار گرفت.

مایکوتوکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه حاصل از قارچ‌های رشته‌ای مختلف هستند که موجب از بین رفتن ارزش غذایی می‌شوند، و با اثرهای زیستی فراوان و ایجاد بیماری‌های حاد و مزمن در انسان و حیوان ایجاد خطر می‌کنند<sup>(۱،۲،۳)</sup>. بیشتر مایکوتوکسین‌ها توسط سه جنس معروف آسپرژیلوس، فوزاریوم و پی‌سیلیوم تولید می‌شوند<sup>(۴)</sup>. تا به حال بیش از ۳۰۰ نوع مایکوتوکسین شناخته شده است. اما فقط ۲۰ نوع آن بطور طبیعی در مواد غذایی و محصولات کشاورزی تولید و باعث آلودگی می‌شوند. بررسی‌های مختلف نشان داده است که حدود ۲۵٪ از محصولات غذایی تولید شده در دنیا، توسط سموم قارچی مختلف آلوده می‌شوند. در این میان آفلاتوکسین‌ها فراوان‌ترین و سمی‌ترین مایکوتوکسین‌ها می‌باشند<sup>(۵،۶)</sup>. این سم در انواع غلات، مانند: ذرت، پنبه، سویا، برنج و گندم و محصولات لبنی، مانند: شیر و کره یافت می‌شود<sup>(۷،۸)</sup>. آسپرژیلوس فلاووس، آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> و آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> را تولید می‌کند. این سم در انسان و حیوانات، با اتصال و ایجاد آسیب به DNA و جهش‌زایی در ژنهای P53، باعث ابتلا به سرطان کبد و اختلال در سیستم ایمنی می‌شود<sup>(۹)</sup>.

آژانس پژوهشی بین‌المللی سرطان و سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization, WHO) آفلاتوکسین‌ها را در گروه یک ترکیبات سرطان‌زا طبقه‌بندی کرد. بیشینه رواداری آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در مواد غذایی مورد مصرف انسان طبق استاندارد ایران (ppb=۵)، نانوگرم برگرم و طبق استاندارد جهانی ۲۰-۱ نانوگرم برگرم است<sup>(۱۰،۱۱،۱۲،۱۳ و ۱۴)</sup>.

کننده در این مرحله، رنگ آبی به زرد تبدیل شد. جذب چاهک‌ها در طول موج اولیه ۴۵۰ نانومتر و ثانویه ۶۳۰ نانومتر توسط الیزا ریدر خوانده شد. غلظت نمونه‌ها در مقایسه با غلظت استانداردها و جذب خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد بدست آمد. اطلاعات بوسیله نرم افزار SPSS16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت، و از آن جایی که در این مطالعه یک متغیر (میزان آفلاتوکسین) مورد نظر بود، از آزمون آماری برای یک متغیر نرمال در یک گروه و روش تعیین میانگین و انحراف معیار استفاده شد<sup>(۱)</sup>.

#### یافته‌ها

نتیجه مطالعات ما نشان داد که همه‌ی ۲۲ نمونه آرد گندم مورد بررسی، آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بودند. بیشترین و کمترین غلظت سم آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در آرد گندم مورد بررسی بترتیب ۱۰/۶ و ۱/۱ ppb بود (جدول ۱). نتایج این مطالعه نشان داد که، از میان ۲۲ نمونه مورد بررسی، ۱۰ (۴۵/۴ درصد) نمونه دارای آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بیشتر از میزان استاندارد (۵ نانوگرم بر گرم) بودند. آلودگی بیشتر از میزان استاندارد جهانی در هیچکدام از نمونه‌ها مشاهده نشد (۲۰-۱ نانوگرم بر گرم).

نتیجه آماری میزان آلودگی در نمونه آرد گندم نشان داد میانگین و انحراف از میانگین بترتیب ۴/۹ و ۰/۶ بود. انحراف معیار و واریانس نمونه‌ها نیز بترتیب ۳/۲ و ۱۰/۲ ارزیابی شد.

#### عصاره‌گیری

۵ گرم از هر نمونه آرد گندم، با ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری و داخل ۲۲ ارلن بطور جداگانه ریخته شد. در مرحله بعد، ۲۵ سی‌سی متانول ۷۰ درصد به ارلن‌های حاوی آرد اضافه و بمدت ۳ دقیقه یا بیشتر بوسیله شیکر (Shaker) تکان داده شد تا بخوبی مخلوط شود. سپس محلول بدست آمده بوسیله کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) صاف شد، و به این ترتیب در این مرحله عصاره جدا شد.

#### اصول تست الیزا

با استفاده از کیت تشخیصی الیزای رقابتی Agraquant (تهیه شده از شرکت Romer سنگاپور)، میزان کمی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌ها مورد سنجش قرار گرفت. جهت شروع آزمایش ۲۰۰ میکرولیتر کونژوگه آنزیمی، به چاهک‌هایی که با آنتی بادی کد نشده بودند اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول استاندارد و عصاره نمونه بترتیب، به آن اضافه شدند. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط فوق برداشته، و به چاهک‌هایی که با آنتی بادی کد شده بودند انتقال داده شد. چاهک‌ها ۱۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند. آفلاتوکسین در نمونه و استانداردهای کنترل با کونژوگه آنزیمی، جهت اتصال به آنتی بادی در فاز جامد رقابت کردند. بعد از مرحله شستشو ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترای آنزیمی به هر چاهک اضافه و ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شد. طی این مرحله رنگ آبی در نمونه‌ها ایجاد شد. غلظت رنگ با غلظت آفلاتوکسین در نمونه و استانداردها نسبت عکس دارند. سپس با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف

جدول ۱: میانگین غلظت سم آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در آرد گندم خام بر حسب ppb

تعداد	غلظت آفلاتوکسین B <sub>1</sub>
۱	۵/۱
۲	۸/۴
۳	۱۰/۶
۴	۲/۳
۵	۱/۴
۶	۲/۵
۷	۶/۵
۸	۷/۸
۹	۱/۴
۱۰	۵/۳
۱۱	۶/۲
۱۲	۸/۳
۱۳	۴/۷
۱۴	۳/۵
۱۵	۱/۵
۱۶	۷/۴
۱۷	۹/۶
۱۸	۱/۳
۱۹	۱/۲
۲۰	۱/۱
۲۱	۱/۲
۲۲	۱/۳

تعداد نمونه	بیشترین	کمترین	میانگین	انحراف از میانگین	انحراف معیار	واریانس
۲۲	۱۰/۶	۱/۱	۴/۹	۰/۶	۳/۲	۱۰/۲

### بحث

قارچ‌ها، براحتی، روی مواد غذایی مختلف کلونیزه می‌شوند و از مواد آلی موجود در آن استفاده می‌کنند. برخی قارچ‌ها، آنزیم‌ها و مواد مفیدی تولید می‌کنند که می‌توانند ارزش جیره غذایی را افزایش دهند، یا متابولیت‌های غیر توکسیکی آزاد نمایند که

موجب فساد مواد غذایی می‌شود. همچنین برخی از قارچ‌ها، مایکوتوکسین تولید می‌کنند که سلامتی انسان و حیوان را به خطر می‌اندازد<sup>(۱)</sup>. بطور کلی وجود این سموم در ماده غذایی، موجب آلودگی می‌شود. اثرات مضر مصرف مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین، شامل: سرطان‌زایی، جهش‌زایی، تولد نوزاد ناقص،

زمستان میزان آلودگی بالاتر از استاندارد جهانی برای آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه ها، بترتیب ۳/۱ درصد و ۷/۱ درصد، و میزان این توکسین در فصل زمستان از تابستان بیشتر بود، ولی باوجود آلودگی در نمونه‌ها، آلودگی بالاتر از حد استاندارد ایران وجود نداشت. همچنین در این مطالعه Taheri و همکارانش نشان دادند رابطه بین رطوبت و فراوانی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و سایر آفلاتوکسین-ها در فصل زمستان، مستقیم و قابل توجه بود<sup>(۱۸)</sup>.

در مطالعه ما، در هیچکدام از نمونه‌ها آلودگی بالاتر از میزان استاندارد جهانی (۲۰-۱ نانوگرم برگرم) نبود. کیفیت مواد غذایی، بهداشت مکان نگهداری مواد غذایی و همچنین میزان و نوع قارچ‌های توکسین‌زا که ممکن است در نمونه غذایی وجود داشته باشند می‌تواند بر میزان سم در نمونه تاثیرگذار باشد. شرایط محافظت از محصول در طی درو یا قبل و بعد از آن طبق اصول کشاورزی و شرایط فیزیکی مناسب در طی نمونه-برداری تاثیر مهم در چگونگی میزان رشد انواع گونه-های قارچی و تولید توکسین‌های مختلف دارد<sup>(۲۰)</sup>. همچنین با وجود حضور میزان بیشتری از اسپورها و کپک‌های آسپرژیلوس در مواد غذایی، امکان تولید بیشتر آفلاتوکسین وجود دارد. بنابراین باید از رشد انواع قارچ، بخصوص آسپرژیلوس جلوگیری شود<sup>(۲۰)</sup> و<sup>(۱۹)</sup>.

در تحقیقی که در سال ۲۰۰۷ لینو (Lino) و همکارانش بر روی نان تهیه شده از آرد گندم و ذرت در نانوائی‌های پرتغال انجام دادند، مشخص شد که ۲۴ نمونه از ۸۰ نمونه مورد مطالعه، توسط سم قارچی فومونیسین آلوده شده بودند<sup>(۲۰)</sup>. در مطالعه دیگر که Roohi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در استان مازندران (شمال ایران)، شهرستان قائمشهر، بر روی ۳۰ نمونه

مسمومیت کبدی، مسمومیت کلیوی، مسمومیت عصبی و پوستی و مهار سیستم ایمنی می‌باشد<sup>(۹)</sup>.

با توجه به این موارد، میزان مجاز مصرف روزانه برای این سم، توسط سازمان بهداشت جهانی و سازمان استاندارد ایران تعیین شده است<sup>(۱۱،۱۲،۱۳)</sup>. در بررسی ما، ۲۲ نمونه آرد گندم با مقادیر مختلف آفلاتوکسین B آلوده شده بودند، اما ۱۰ نمونه دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز ایران (۵ نانوگرم برگرم) بودند.

در مطالعه‌ای که در نواحی مختلف جغرافیایی کشور هند توسط توتجا (Toteja) و همکارانش در سال ۲۰۰۶ انجام شد، ۴۰/۳ درصد از نمونه‌های گندم، دارای آلودگی بیش از میزان مجاز استاندارد جهانی بودند<sup>(۱۵)</sup>. در مطالعه ما ۴۵/۴ درصد از نمونه‌ها، آلودگی بیشتر از حد مجاز استاندارد ایران را نشان دادند که نزدیک به میزان اندازه‌گیری شده در مطالعه توتجا بود.

اختلاف بین میزان آلودگی در جیره‌های غذایی مختلف می‌تواند طبق محل و شرایط نگهداری، ناحیه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و دمای محیط متفاوت باشد. در نواحی مختلف جغرافیایی در دوره‌های متفاوت فصلی بدنبال تغییر آب و هوایی، غلظت‌های مختلف مایکوتوکسین در محصولات کشاورزی قابل مشاهده است<sup>(۱۶)</sup>. طبق بررسی‌های انجام شده میزان آلودگی در ماه‌های سرد از ماه‌های گرم بیشتر است، در نتیجه ممکن است نمونه برداری در ماه‌های مختلف سرد یا گرم، یکی از دلایل اختلاف میزان غلظت مایکوتوکسین در نمونه‌های مختلف مواد غذایی باشد<sup>(۱۷)</sup>.

Taheri و همکارانش در سال ۲۰۱۲ در ایران، در ۲۰۰ نمونه آرد گندم جمع آوری شده از استان گلستان (شمال ایران)، گزارش دادند که در فصل تابستان و

عواملی از قبیل: بکارگیری حشره کش‌ها و قارچ-کش‌ها در زمین‌های کشاورزی و انبار، روش‌های مناسب سیلو کردن و انبارداری، رعایت اصول بهداشتی در محیط‌های مورد نظر و روش‌های حذف قارچ‌ها مانند بکارگیری گونه‌های رقیب قارچ مورد نظر، روش‌های مختلف کنترل زیستی توسط میکروارگانیسمها و حرارت، می‌تواند میزان قارچ و تولید سم را در مواد غذایی کاهش دهد<sup>(۲۱ و ۲۲)</sup>. در شمال ایران، بعلت وجود آب و هوای مرطوب و معتدل، رشد قارچ نسبت به سایر مناطق کشور ممکن است بهتر صورت گیرد<sup>(۲۳)</sup>.

### نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت و ارزش غذایی گندم، نان و موارد ذکر شده، امید است در آینده مطالعات بیشتری در رابطه با شناسایی و کنترل سموم قارچی صورت گیرد.

کلوچه و بیسکویت تولید شده از آرد گندم انجام دادند، مشخص شد ۲۶ (۸۶/۷ درصد) نمونه‌ها، آلوده به آفلاتوکسین بودند، اما بر خلاف مطالعه ما، در هیچکدام از نمونه‌ها آلودگی بیشتر از میزان استاندارد ایران و جهان وجود نداشت. با توجه به اینکه حرارت دادن موجب کاهش مایکوتوکسین‌ها می‌شود، یکی دیگر از دلایل کاهش سم و اختلاف غلظت ممکن است همین باشد<sup>(۲۱)</sup>.

همچنین در تحقیقی که Roohi و همکاران در سال ۲۰۱۲، در ایران، روی آرد گندم شیرینی پزی‌ها در استان مازندران (شمال ایران)، شهرستان قائمشهر انجام دادند مشخص شد که از بین ۲۲ نمونه جمع آوری شده طی فصل بهار (فروردین، اردیبهشت و خرداد) تنها ۱ (۴/۸ درصد) نمونه آلوده به سم قارچی فومونیسین بود<sup>(۱)</sup>. از آنجا که یک نوع مایکوتوکسین می‌تواند توسط بیشتر از یک نوع قارچ تولید شود و یا یک نوع قارچ می‌تواند چند نوع مایکوتوکسین تولید کند، تنوع در میزان و نوع توکسین در جیره‌های غذایی مختلف متفاوت است<sup>(۲۱)</sup>.

### References

1. Roohi S, Gholampour Azizi I, Hashemi M. Fumonisin contamination based on flour quality used in bakeries and confectioneries in Qaemshahr (city of the Northern Iran). *Afr J Microbiol Res*, 2012 February; 6: 1815-18.
2. Sahar N, Ahmad M, Parvin Z, Ilyas A, Bhutto A. Screening of mycotoxins in wheat, fruits and vegetables grown in sindh, pakistan. *Pak J bot*, 2009 December; 41: 337-41.
3. Bennett J W, Klich M. Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev*, 2003 July; 16: 497-16.
4. Paterson RMR, Lima N. Toxicology of mycotoxins. *Mol Clin Environ Toxicol*. IN: Luch A, Editors. Federal Institute for Risk Assessment. Springer, 2010: 31-63.
5. Amadi JE, Adeniyi DO. Mycotoxin production by fungi isolated from stored grains. *Afr J Biotech*, 2009 April; 8: 1219-21.
6. Whitlow LW, Hagler WM, Diaz DE. Mycotoxins in feeds. *Feedstuffs*, 2010 September; 74: 74-84.
7. Pereyra CM, Alonso VA, Rosa CAR, Chiacchiera SM, Dalceroand AM, Cavaglieri LR. Gliotoxin natural incidence and toxigenicity of *Aspergillus fumigatus* isolated from corn silage and ready dairy cattle feed. *World Mycotoxin J*, 2008 November; 1: 457-62.

8. Hadizadeh Moalem SH, Gholampour Azizi I, Azarmi M. Prevalence of Aflatoxin B1 in feedstuffs in Northern Iran. *Global Vet*, 2010 May; 4: 144-48.
9. Zinedine A, Maes J. Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*, 2009 April; 20: 334-44.
10. Institute of Standards & Industrial Research of Iran [ISIRI]. Food and feed- mycotoxins: maximum tolerated level, 1st ed. Tehran, Iran: Institute of standards and industrial research of Iran (ISIRI), 2002: 3-20.
11. Yazdanpanah H, Zarghi A, Shafaati AR, Foroutan SM, Aboul-Fathi F, Khoddam A, Nazari F, Shaki F. Analysis of Aflatoxin B1 in Iranian foods using HPLC and a Monolithic Column and estimation of its dietary intake. *Iranian J Pharma Res*, 2013 Suppl; 12: 83-9.
12. Li K, Qiu F, Yang M, Liang Z, Zhou H. Survey of aflatoxins contamination of foodstuffs and edible oil in Shenzhen. *Wei Sheng Yan Jiu*, 2013 July; 42: 604-10.
13. Hedayati MT, Mohammad Pour A. Contamination rate of *Aspergillus flavus* and aflatoxin f wheat samples in Mazandaran province store (2002). *J Kermansha University Med Sci*. In Persian, 2005 April; 9: 52-62.
14. Cunha Moreno E, Tironi Garcia G, Augusto Ono M, Vizoni D, Kawamura O, Yoko Hirooka E, Yurie Sataque Ono E. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paran State, Brazil. *Food Chem*, 2009 September; 116 : 220-26.
15. Toteja GS, Diwakar S, Singh P, Saxena BN, Sinha KK, Sinha AK, et al. Aflatoxin B1 contamination in wheat grain samples collected from different geographical regions of India: a multicenter study. *J Food Protect*, 2006 July; 69: 1463-67.
16. Sassahara M, Pontes Netto D, Yanaka EK. Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M1 in raw milk in the North of Parana state. *Food Chem Toxicol*. 2005 June; 43: 981-84.
17. Ayar A, Sert D, Hilmi Con A. 2007. A study on the occurrence of Aflatoxin in raw Milk due to feeds. *J Food Safety*. 2007 June; 27: 199-207
18. Taheri N, Semnani S, Roshandel G, Namjoo M, Keshavarzian H, Chogan AG, Ghasemi Kebria F, Joshaghani H. Aflatoxin contamination in wheat flour samples from Golestan Province, Northeast of Iran. *Iranian J Publ Health*, 2012 September; 4: 42-7.
19. Marina Martins H, Manuela Mendes Guerra M, Manuel d'Almeida Bernardo F. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow's feed over 10 years in Portugal (1995-2004). *Rev Iberoam Micol*, 2007 March; 24: 69-71.
20. Lino C, Silva L, Pena A, Fernández M, Mañes J. Occurrence of fumonisins B1 and B2 in broa, typical Portuguese maize bread. *Int J Food Microbiol*, 2007 June; 118: 79-82.
21. Gholamour Azizi, Rouhi S. The comparison of total Fumonisin and total Aflatoxin levels in biscuit and cookie samples in Babol City, Northern Iran. *Iranian J Publ Health*, 2013 April; 42: 422-27.
22. Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products, *Food Chem Toxicol*. 2008 December; 1-8.
23. Riazipour M, Imani Fooladi AA, Razzaghi-Abyaneh M. Natural Occurrence of T-2 Toxin in Domestic and Imported Rice. *Iranian J Publ Health*, 2009 September; 38: 111-16.

## Determination of aflatoxin in wheat flour samples by ELISA in Chalus city (Mazandaran province)

<sup>1</sup>Fatemeh Zaboli, <sup>2</sup>Issa Gholampour Azizi, <sup>3,4</sup>Samaneh Rouhi, <sup>5</sup>Mahsa Azimi\*

1- Assistant Professor of Mycology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli, Amol, Iran

2- Assistant Professor of Mycology, Islamic Azad University Babol Branch, Babol, Iran,

3- PhD Student of Bacteriology, Cellular & Molecular Research Center and Microbiology Department, Member of Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran.

4- Department of Microbiology Science, Young researchers Club, Islamic Azad University Qaemshahr Branch, Iran

5- MSc of Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli, Amol, Iran; E-mail: microbial\_sci@yahoo.com, Tel: (+98) 9353929575,

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Wheat is the main cereal that is used in Iran and in the world. Aflatoxin contamination of these products has an important role in human health. Eating contaminated product causes of acute and chronic diseases in humans and animals.

**Material and Methods:** In this study, 22 samples of wheat flour were randomly collected from different bakeries in Chalus city. Aflatoxin B1 contamination was measured by ELISA method. For statistical analysis, SPSS software and statistical tests: correlation, t-test and ANOVA were used.

**Results:** The results indicated that all samples of wheat flour every 22 samples were contaminated with aflatoxin B1. The minimum and maximum levels of aflatoxin B1 in raw wheat flour were 1.1 and 10.6 ppb, respectively.

**Conclusion:** Aflatoxin cause economic losses to the industry and risk for health of consumers. So reduction of Aflatoxin in food should be considered.

**Keywords:** Aflatoxin B1, wheat flour, ELISA, Chalus