

آلودگی به آفلاتوکسین و اکرآتوکسین در غلات صبحانه با روش HPLC

آیدین ماهتابانی^۱، منصور بیات^{۲*}، سید ابراهیم حسینی^۳، مهدی امین افشار^۴، حمیدرضا توکلی^۵

۱. کارشناس ارشد مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
۲. استادیار گروه قارچ شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
۳. استادیار گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
۴. استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات.
۵. دانشیار گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...^(ته)، تهران، ایران

* نشانی برای مکاتبه: گروه قارچ شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات،
dr_mansour_bayat@yahoo.com

دریافت مقاله: مهر هشتاد و نه پذیرش برای چاپ: آذر هشتاد و نه

چکیده

سابقه و هدف: آفلاتوکسین ها و اکرآتوکسین از مهمترین سموم قارچی هستند که در مواد غذایی مختلف رشد نموده و عوارض خطرناکی را به همراه دارند. یکی از مهمترین وظایف مسئولین بهداشت اطمینان از سلامت مواد غذایی مصرفی در جامعه است که با روش های مختلفی انجام می گیرد. در این تحقیق میزان آلودگی غلات صبحانه به آفلاتوکسین و اکرآتوکسین به روش HPLC مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: تعداد ۱۸ نمونه بطور تصادفی انتخاب و پس از یکنواخت نمودن طی ۳ مرحله استخراج، تخلیص و تعیین مقدار سموم مورد بررسی قرار گرفت. سپس تشخیص با دکتور فلورسانس $\lambda_{me} = 333$ و $\lambda_{xe} = 460$ و $Gain = 1000$ و $Attn = 16$ و تعیین مقدار از طریق مقایسه سطح زیر منحنی تک تک نمونه ها و استانداردها با احتساب ضریب رقت انجام شد. یافته ها: در هیچ یک از نمونه های مورد آزمایش اکرآتوکسین A یافت نشد. B_1 و B_2 AF در برخی از نمونه ها یافت شد، اما مقادیر آنها زیر حد استاندارد ایران، اروپا و آمریکا بود. همچنین در هیچیک از نمونه ها وجود G_1 و G_2 AF تایید نگردید. نتیجه گیری: نتایج این بررسی و مطالعات انجام شده نشان میدهد در مواد غذایی آلودگی بالقوه به قارچ و سم ناشی از آن وجود دارد. اعمال استانداردهای جهانی در مراحل برداشت، حمل و نقل، نگهداری و مصرف میتواند در کاهش آلودگی موثر واقع گردد. واژگان کلیدی: اکرآتوکسین، آفلاتوکسین، HPLC، غلات صبحانه.

مقدمه

روش ها شامل، اصلاح بذر گیاه قبل از کاشت، مراقبت حین رشد، خشک کردن مناسب پس از برداشت و... می باشد (۲). آلوده شدن غذا ها و منابع غذایی با مایکوتوکسین ها به ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری که درجه حرارت و میزان رطوبت محیط برای رشد گونه های مولد مایکوتوکسین ها (آسپرژیلوس و پنی سیلیوم) و تولید سم به وسیله آنها مساعد می باشد اجتناب ناپذیر است. به همین جهت و با توجه به اثرات زیان آور و عوارض نامطلوب ناشی از مسمومیت با این مایکوتوکسین ها و به منظور برطرف نمودن یا به حداقل رساندن این قبیل اثرات راهکارهای مختلفی به کار گرفته می شود (۳). به منظور حذف آلودگی از غذاها و منابع غذایی آلوده به مایکوتوکسین ها از راه های گوناگون استفاده می گردد.

مواد غذایی با اشکال گوناگون عرضه می شوند مثلاً به صورت غذاهای کنسروی، لبنیات، فرآورده های گوشتی، سوپ های آماده مصرف، غلات صبحانه و... روشهای مرسوم در کاهش میزان مایکوتوکسین ها با هدف عاری شدن غذاهای مصرفی تا پایین ترین غلظت مایکوتوکسین ها صورت می گیرد (۱). در کشورهای توسعه یافته این مساله توسط سازمان هایی با وضع قوانینی که تولیدات با سطح پایین مایکوتوکسین ها را ایجاب می کند انجام می گیرد. این کار در کشور های در حال توسعه به خوبی پیش نمی رود. روش های نادرست کاشت، داشت، برداشت و نیز انبارداری و باربری باعث ازدیاد تولید این سموم در غلات می گردد.

روشهای پیشگیری و کنترل مایکوتوکسین ها به میزان زیادی به نوع فرآورده و نوع قارچ بستگی دارد. اما برخی اصول کلی قابل اجرا است. این

نیز حد مجاز اکرآتوکسین A در غلات ۵ ppb و در کشمش ۱۰ ppb است.(۹).

بر خلاف توکسین های باکتریایی، اغلب مایکوتوکسین ها ساختمان پروتئینی ندارند و مولکول های نسبتا کوچکی هستند و به همین دلیل به طور معمول بوسیله سیستم ایمنی انسان و دامها شناسایی نمی شوند. علائم مایکوتوکسیکوز حاد معمولا با مسمومیت حاصل از توکسین های باکتریایی متفاوت است. علائم مایکوتوکسیکوز به دلیل اختلاف در ساختار شیمیایی آنها بسیار گوناگون می باشد. برخی از این ترکیبات ممکن است موجب بروز علائم مختصری شوند تا هنگامی که مرگ حاصل شود. در صورتیکه سایرین موجب ایجاد آثار شدید شامل نکروز پوستی، لوکوپنی و تضعیف سیستم ایمنی می شوند. مقادیر مورد نیاز برای ایجاد بیماری مزمن بسیار کمتر از مقادیر مورد نیاز برای تولید عوارض حاد می باشد. بنابراین آثاری همانند سرطان یا ایجاد تومور هنگامی ظاهر می شوند که بیماری کاملا پیشرفته شده است. یک خطر بالقوه مایکوتوکسین ها در جیره غذایی انسان به دلیل عدم توانایی مشخص نمودن آنها از روش بیولوژیکی است. با وجود تمام اقدامات فوق همواره امکان آلودگی محصول وجود دارد. زیرا آلودگی محصولات کشاورزی به آفلاتوکسین ها موجب بروز ضرر اقتصادی فراوانی در کشورهای تولید کننده و باعث مسمومیت مصرف کنندگان این نوع محصولات می شوند. در تحقیق حاضر میزان نفوذ سموم قارچی آفلاتوکسین و اکرآتوکسین به غلات صبحانه موجود در فروشگاه های شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

مواد و وسایل مورد استفاده در طرح شامل: ۱. سم آفلاتوکسین (B₁, B₂, G₁, G₂) خالص، ۲. سم اکرآتوکسین A خالص، ۳. محلول متانول MeOH، ۴. محلول اسید استیک، ۵. محلول PBS، ۶. محلول Tween 20، ۷. محلول NaCl، ۸. حلال فاز متحرک MeCN (H₂O:Acetic Acid (99:99:02) : ۹. H₂O-HPLC، ۱۰. کاغذ صافی معمولی و GFF، ۱۱. آب دیونیزه، ۱۲. دکتور فلورسانس، ۱۳. دستگاه HPLC، ۱۴. بلندر، ۱۵. ستون Immuno affinity بود. ۱۸ نمونه از انواع مختلف غلات صبحانه با پایه های غله ای متفاوت (گندم، ذرت، جو، چاودار و برنج) غیر شکلاتی را در ۶ زیرگروه ۳ تایی (گروه های A تا C) از شرکت های تولید کننده داخلی با تاریخ تولید های متفاوت که نام تجاری و اجزای تشکیل دهنده نمونه ها در جدول شماره ۱ ارائه شده است، آسیاب و به طور مجزا بسته بندی شد.

جدول ۱: مشخصات نمونه ها با نام تجاری و اجزای تشکیل دهنده نمونه ها

شرکت تولیدی	نام تجاری محصول	اجزای تشکیل دهنده محصول
شرکت دینا	چی پف ذرتی شکلاتی (گروه A)	بلغور ذرت-شکر-پودر کاکائو-نمک-لسیتین- شیر خشک-روغن جانشین کره کاکائو
شرکت پنگوئن	کراسلی شکلاتی (گروه B)	گندم-جو-ذرت-چاودار-شکلات-آرد کامل- کاکائو-گلوکز-شکر-روغن گیاهی
شرکت کیوان(کام)	برشتوک کاکائویی (گروه C)	بلغور برنج و گندم و ذرت-شکر-پودر کاکائو- عصاره مالت-نمک لسیتین-وانیلین-گلیسرول منو استنارات

آزمایش در ۳ مرحله استخراج، تخلیص و تعیین مقدار انجام پذیرفت که در ذیل شرح داده خواهد شد.

در تمام این روش ها که شامل روش های شیمیایی (۱- اسید ها و باز ها ۲ - عوامل اکسید کننده ۳ - بی سولفیت سدیم)، بیولوژیکی (۱- تک یاخته ها ۲- باکتری ها ۳- قارچ ها ۴- مخمرها) و فیزیکی (۱- استخراج با حلال های آلی ۲- غیر فعال کردن با حرارت ۳- تابانیدن اشعه ۴- ترکیبات جاذب) می باشند تجزیه، تخریب، غیر فعال نمودن و یا جدا کردن سم صورت می گیرد، به طوری که یک روش موفق جهت رفع آلودگی اقتصادی بوده و توانایی حذف تمام مقادیر جزئی سم را بدون باقی گذاشتن بقایای زیان آور را داشته و به کیفیت تغذیه ای ماده غذایی نیز آسیب وارد نمی کند.(۴).

در سال ۱۹۹۳ سازمان بهداشت جهانی، پتانسیل سرطان زایی آفلاتوکسین، اکرآتوکسین، فومونیسین، زرالنون و تریکوتسن را ارزیابی نمود. در این ارزیابی آفلاتوکسین ها به عنوان گروه اول سرطانزایی انسان محسوب شد، در حالیکه اکرآتوکسین و فومونیسین به عنوان گروه دوم سرطان زایی احتمالی طبقه بندی شدند و تریکوتسن و زرالنون به عنوان عامل سرطان زای انسان شناخته نشدند. فعالیت متابولیکی آفلاتوکسین B₁ در کبد نشان می دهد که از نظر حساسیت به سمیت حاد در حد متوسطی است و ممکن است به سمیت مزمن نظیر خاصیت سرطان زایی آن تا حدی حساسیت نشان دهد(۵). در اثر ترشح آفلاتوکسین M₁ از شیر مادران، کودکان نیز در معرض خطر قرار می گیرند. بنابراین در حذف آلودگی آن در مواد غذایی باید کوشش شود(۶). در سال ۱۹۶۷، ۲۶ تایوانی در اثر مصرف برنج کپک زده علائم مسمومیت غذایی را آشکار کردند که ۱۹ نفر آنها کودک بوده و ۳ نفر از آنها جان خود را از دست داد. میزان آفلاتوکسین B₁ در این برنج آلوده ۲۰۰ میکروگرم در کیلوگرم بوده است. در سال ۱۹۷۴، ۴۰۰ نفر هندی به هیپاتیت مبتلا شدند که منجر به مرگ ۱۰۰ نفر از آنها شد، علت آن مصرف ذرت کپک زده حاوی ۱۵ میلی گرم در کیلوگرم آفلاتوکسین بود(۷). (دوز کشنده حاد برای انسان بزرگسال در حدود ۱۰ میلی گرم است).

در مطالعات انجام شده ثابت شده ۲۵٪ کل مواد غذایی سالیانه با سموم قارچی آلوده می شوند که باعث خسارات اقتصادی می گردد. به دلیل اهمیت این ۲ مایکوتوکسین در مواد غذایی کمیته ها و موسسات مختلف استانداردهایی از وجود آنها را در مواد غذایی مطرح نموده اند که البته از کشوری تا کشور دیگر متفاوت است (۵۰-۵۰۰ نانو گرم در گرم). حد مجاز آلودگی به آفلاتوکسین B₁ در جیره غذایی دام ۵ میکروگرم در کیلوگرم و در غذای انسان ۲ میکروگرم در کیلوگرم بر طبق استاندارد ایران است. حد مجاز مجموع آفلاتوکسین ها در مواد غذایی در آمریکا ۲۰ ppb و در اروپا ۲-۴ ppb می باشد(۸). در حال حاضر در کشور ما حد استاندارد برای آفلاتوکسین توتال ۱۵ ppb و برای آفلاتوکسین B₁ ۵ ppb می باشد و

طریق مقایسه سطح زیر منحنی تک تک نمونه ها و استانداردها با احتساب ضریب رقت انجام شد.

یافته ها

در هیچ یک از نمونه های مورد آزمایش اکرآتوکسین A یافت نشد و مقدار آن در همه نمونه ها 0.0 بود. آفلاتوکسین B₁ و B₂ در برخی از نمونه ها یافت شد، اما در همه آنها زیر حد استاندارد ایران (ppb₅) اروپا (۴- ppb_۲) و امریکا (ppb_{۲۰}) بود(۸). اما مقدار آفلاتوکسین های G₁ و G₂ در کلیه نمونه ها 0.0 بود. جزئیات نتایج در جدول ذیل آورده شده است.

الف) مرحله استخراج: در این مرحله ابتدا برای فعال کردن ستون ها محلول PBS را از آنها عبور می دهیم. بعد هر نمونه را به خوبی مخلوط کرده و سپس ۱۰ گرم از هر نمونه را با احتساب ۱/۱ خطا توزین می کنیم. ۱۰ گرم نیز برای نمونه Spike با ۱/۱ خطا توزین می کنیم و ۵۰ میکرولیتر از اکرآتوکسین A و آفلاتوکسین های B₁، B₂، G₁، G₂ استاندارد با غلظت ۱۰۰۰ ppm را در جاهای مختلف نمونه اضافه می کنیم. مراحل کار در این قسمت به ترتیب زیر است:

توزین ۱۰±۰/۱g نمونه، سپس افزودن ۱g NaCl و بعد از آن افزودن ۱۰۰ml حلال استخراج (MeOH : H₂O = 80:20) و اختلاط به مدت ۳ min با بلندر و فیلتر با کاغذ صافی معمولی و برداشتن ۵ ml محلول فیلتر شده و افزودن ۴۵ ml محلول PBS و تکان دادن شدید آن و عبور از کاغذ صافی GFF و برداشتن همه عصاره رقیق شده، همراه با رساندن ستون به دمای آزمایشگاه و عبور ۲۰ ml محلول PBS(۸).

ب) مرحله تخلیص: عبور ۳۶ ml عصاره رقیق شده از ستون و سپس شستشوی ستون با ۱۰ ml محلول PBS و بعد از آن خشک کردن ستون با عبور فشار ملایم هوا به مدت ۱۵-۱۰ ثانیه و افزودن ۵۰۰ میکرو لیتر (98 :02) MeOH :AOCH به ستون و جمع آوری در ویال و سپس ۱min توقف و در این هنگام افزودن ۱۰۰۰ میکرو لیتر MeOH : (98 : 02) AOCH به ستون و جمع آوری در ویال و افزودن ۱۵۰۰ میکرو لیتر H₂O-HPLC به ویال و مخلوط سازی با ورتکس و شستشوی ستون با ۲۰ ml محلول PBS و تزریق ۱۰۰ میکرو لیتر به HPLC (۵) (ج) مرحله تعیین مقدار: تشخیص با دتکتور فلورسانس ۳۳۳ $\lambda_{me}=460$ و $\lambda_{xc}=460$ و Gain = ۱۰۰۰ و Attn = ۱۶ و تعیین مقدار از

جدول ۲: غلظت نهایی مایکوتوکسین های مورد آزمایش در نمونه های Spike

غلظت نهایی (ppb)					شماره نمونه	نام نمونه
AFTG ₂	AFTG ₁	AFTB ₂	AFTB ₁	OTA		
0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	D1	نمونه های شکلاتی شرکت دینا (چی بیف) گروه D
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	D2	
0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	D3	
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	D4	
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	D5	
0.00	0.00	0.00	0.23	0.00	D6	
0	0	0	73	0	-	جمع کل به درصد
0.00	0.00	0.00	0.41	0.00	E1	نمونه های شکلاتی شرکت پنگون (کراسلی) گروه E
0.00	0.00	0.00	0.43	0.00	E2	
0.00	0.00	0.00	0.24	0.00	E3	
0.00	0.00	0.00	0.35	0.00	E4	
0.00	0.00	0.06	0.44	0.00	E5	
0.00	0.00	0.11	0.86	0.00	E6	
0	0	5.87	94.13	0	-	جمع کل به درصد
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	F1	نمونه های شکلاتی شرکت کیوان (کام) (پرشتوک) گروه F
0.00	0.00	0.00	0.49	0.00	F2	
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	F3	
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	F4	
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	F5	
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	F6	
0	0	0	49	0	-	جمع کل به درصد
1.00	5.00	1.06	5.44	5.00	-	نمونه Spike
0.00	0.00	0.06	0.44	0.00	-	نمونه Blank
0	0	4.13	95.87	0	-	جمع نهایی به درصد

بحث

موجود در پودر ماهی، ذرت و کنجاله سویا پرداخت و به این نتیجه رسید که کنجاله سویای وارداتی، ذرت تولید داخل و پودر ماهی تولید داخل بیشترین میزان آلودگی به قارچ آسپرژیلوس را دارا بودند. بیشترین مقدار آلودگی به سم آفلاتوکسین B_1 در پودر ماهی تولید داخل بود (۹). Alborzi (۲۰۰۶) به ارزیابی میزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه های شیر پاستوریزه در شهر شیراز پرداخت و به این نتیجه رسید که ۱۷/۸٪ کل نمونه های جمع آوری شده دارای آفلاتوکسین M_1 بالاتری نسبت به حد مجاز بودند (۲۳). Kamkar (۲۰۰۵) به بررسی شیوع میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر خام تولید شده در شهر سراب پرداخت و دریافت که میانگین میزان آلودگی آفلاتوکسین M_1 در نمونه های فصل پاییز و زمستان به طور قابل توجهی نسبت به نمونه های تابستان و بهار بالاتر بودند و نمونه های فصل تابستان و بهار با هم تفاوتی نداشتند (۲۴). Kamkar (۲۰۰۵) شیوع میزان آفلاتوکسین M_1 را در پنیر Feta در ایران مورد ارزیابی قرار داد و دریافت که شیوع بالای آفلاتوکسین M_1 در نمونه های پنیر در سلامت انسان ممکن است خطرناک باشد. غالب مواد غذایی که به مصرف انسان یا حیوان می رسند محیط کشت مناسبی برای رشد قارچ ها و تولید توکسین ها می باشند (۲۵). این سموم تغییرات بافتی در محیط ایجاد کرده که این تغییرات بیشتر در کبد عارض می شود و منجر به اختلالات کبدی، سیروز و بالاخره سرطان کبد می گردد (۱۵).

آفلاتوکسیکوز باعث کاهش رشد، کاهش تولید، افزایش کلسیفیکاسیون استخوان ها، افزایش زمان انعقاد خون و نیز اثرات سرطان زا می شود (۱۲، ۱۵). آفلاتوکسیکوز در انسان به طور مستقیم از راه خوردن غذاهای آلوده به سم و غیرمستقیم از طریق فرآورده های دامی آلوده مانند شیر، گوشت و تخم مرغ و محصولات تولیدی از غلات ایجاد می شود (۲۶). در سال ۲۰۰۴ آفلاتوکسیکوز شدید ناشی، از خوردن شیر و غذاهای آلوده به آفلاتوکسین، منجر به مرگ ۱۲۵ نفر در کنیا شد (۲۷، ۲۸). Fischer و همکاران در سال ۱۹۹۵ از ۵۱ درصد از نمونه ذرت مورد مطالعه خود ۷۵۰-۲۰ میکروگرم در کیلوگرم آفلاتوکسین جدا نمودند (۲۹). می توان گفت در اقلام عمده مواد غذایی، آلودگی بالقوه به قارچ و سم ناشی از آن وجود دارد. برخی از مناطق کشورمان نظیر استان خوزستان به دلیل شرایط اقلیمی خاص از نظر درجه حرارت و میزان رطوبت نسبی، شرایط مناسبی برای رشد قارچ های توکسین زا و تولید سم توسط آنها بر روی منابع غذایی فراهم می سازد و در این شرایط اقلیمی حتی مواد اولیه وارداتی نیز به راحتی به این قارچ ها و سموم حاصل، آلوده می شوند. به دلیل اهمیت زیاد آفلاتوکسین و قارچ های تولیدکننده آن به خصوص آسپرژیلوس ها در بهداشت انسان و دام، این بررسی به منظور جداسازی و اندازه گیری میزان آفلاتوکسین و اکراتوکسین موجود در غلات صبحانه، انجام گرفت تا ارتباط بین آلودگی اجزاء مختلف سم حاصله مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه گیری

با توجه به قارچ های مولد آفلاتوکسین و عوامل کنترل کننده این قارچ ها، در محل تولید همبستگی مثبتی بین کاهش جمعیت قارچ های مولد آفلاتوکسین و عوامل کنترل کننده با کاهش میزان آفلاتوکسین دیده شد و از پتانسیل عوامل کنترل کننده می توان برای جلوگیری از آلودگی غلات به آفلاتوکسین به خوبی استفاده نمود.

بر اساس برخی تخمین ها سالانه بیش از ۲۵ درصد کل غلات تولیدی جهان در معرض آلودگی قارچی قرار دارند (۱۰). برخی از انواع گونه های قارچ آسپرژیلوس در شرایط مناسب قادر به تولید آفلاتوکسین ها هستند (۱۲-۱۰). از این میان گونه های قارچی، آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس مهمترین تولیدکنندگان این سموم می باشند. آفلاتوکسین ها ترکیبات شیمیایی خاصی هستند که طی یک سری واکنشهای متوالی آنزیمی توسط تعدادی از گونه های قارچ های آسپرژیلوس و پنی سیلیوم هنگام رشد و نمو در شرایط مناسب روی بسیاری از مواد مختلف تولید می شوند (۱۴-۱۰). تاکنون ۱۸ نوع مختلف از انواع آفلاتوکسین ها شناسایی شده اند ولی فقط آفلاتوکسینهای نوع G_1 ، G_2 ، B_1 ، B_2 به عنوان آلوده کننده های غذا و منابع غذایی مورد شناسایی قرار گرفته اند، که در میان آنها آفلاتوکسین B_1 دارای بالاترین میزان سمیت می باشد (۱۱، ۱۵، ۱۶). این سموم منجر به تضعیف سیستم ایمنی خونی و ایمنی با واسطه سلولی انسان ها می شود و آنها را نسبت به سایر عفونت ها حساستر می کنند (۱۲، ۱۷). Villa and Markaki به بررسی آفلاتوکسین B_1 و اکراتوکسین A به روش HPLC در غلات صبحانه ی موجود در فروشگاه های شهر آتن یونان پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در ۵۶/۳٪ نمونه ها AFTB1 وجود داشت که در ۷ نمونه میزان آن بیشتر از حد مجاز اروپا بود. همچنین در ۶۰٪ از نمونه ها نیز OTA مشاهده شد و ۱۹ نمونه نیز به هر دو مایکوتوکسین آلوده بودند (۱۸) و همچنین Molinie به بررسی برخی از غلات صبحانه در فروشگاه های فرانسه از نظر اکراتوکسین A، سیتیرینین و فومونیسین B_1 پرداختند و به این نتیجه رسیدند که در ۶۰٪ از نمونه ها OTA یافت شد که در ۲۰٪ از آنها مقدار آن بالاتر از حد مجاز اروپا بود. ۲۰٪ از نمونه ها نیز حاوی سیتیرینین بودند و فومونیسین B_1 نیز نه تنها در کورن فلیک بلکه در فرآورده هایی که حاوی جو و برنج بودند نیز یافت شد. برخی از نمونه ها نیز حاوی هر سه نوع مایکوتوکسین بودند (۱۹). Kabak (۲۰۰۹) اکراتوکسین A در فرآورده های غلات به روش HPLC در ترکیه پرداخت و به این نتیجه رسید که در ۳۸٪ از غلات صبحانه و ۱۷٪ از غذای کودک بر پایه ی غلات OTA وجود داشت ولی غلظت آن خیلی پایین تر از حد مجاز اروپا بود، در نتیجه خطری را برای سلامتی انسان در پی ندارد. در این تحقیق ما در کل ۹۵/۸۷٪ $AFB_1 = 0$ ، $OTA = 0$ بود (بعبارتی در این تحقیق نیز AFB_1 بیشترین نسبت حضور را داشت) قابل توجه است که در این تحقیق AFB_2 نیز در رتبه دوم با میزان ۴/۱۳٪ بود که ویژگی این تحقیق می باشد، بعبارتی تنوع آفلاتوکسین در غلات صبحانه غیر شکلاتی ایران بیشتر از یونان می باشد. در این تحقیق با بررسی غلات صبحانه شکلاتی سه شرکت کیوان، پنگوئن و شیرین گندمک درصد حضور آفلاتوکسین B_1 به ترتیب ۷۳٪، ۹۴/۱۳٪، ۴۹٪ و آفلاتوکسین B_2 به ترتیب ۰٪، ۵/۸۷٪، ۰٪، می باشد (۲۰). Flajs (۲۰۰۹) به بررسی آب انگور و شراب های قرمز در کرواسی به دو روش HPLC و ELISA پرداختند و به این نتیجه رسیدند که مقدار OTA در آب انگور بالاتر از شراب بود، همچنین در مقایسه با HPLC، ELISA نتوانست غلظت های پایین تر OTA را آشکار سازد (۲۱). هاشمی (۱۳۸۶) سنجش آفلاتوکسین M_1 در شیر پاستوریزه و استریلیزه مصرفی شهر بابل را انجام داد و دریافت که آلودگی آفلاتوکسین M_1 در شیر این منطقه بالاتر از حد مجاز می باشد (۲۲). میحایی (۱۳۸۶) به جداسازی آسپرژیلوس و اندازه گیری میزان آفلاتوکسین

REFERENCES

1. The Independent .. BPIA Scotches Report on Health Hazard from Poultry Feed . 2001:pp.56-59.
2. Galvano F, Glofaro V, Ritieni A, Bognano M, Angelis ADe, Galvano G. Survey of the Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products Marketed in Italy: Second Year of Observation, Food Additives and Contaminants, 2001; 18:644-646.
3. Rosa C, Miazzo R, Magnoli C. Evaluation of the Efficacy of Bentonite from the South of Argentina to Ameliorate the Toxic Effects of Aflatoxin in Broilers, Poultry Science Journal, 2001; 80:139-144.
4. Ibrahim IK, Shareef AM, Al-Joubory KMT. Ameliorative Effects of Sodium Bentonite on Phagocytosis and Newcastle Disease Antibody Formation in Broiler Chichens During Aflatoxicosis, Res Vet Sci, 2000; 69:19-22.
5. Turner P, Moore S, Hall A, Prentica A, Wild C. Modification of Immune Function Through Exposure to Dietary Aflatoxin in Gambia Children, Environ Health Perspect, 2003; 111:217-220.
6. Joffe AZ. Fuzarium P, Sporotrichoides F. Principel Casual Agents of Alimentary Toxic Alleluia in Wyllia T.D and Moeboue Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, Mycotoxicosis: an Encyclopedic Handbook. Marcel Dekker, Newyork. 1968; 21-86.
7. Krishnaamachari K, Bhat R, Nagarajan R, Tilak V. Investigation into an Outbreak of Hepatitis of Western Indian, J. Med Research 1975; 63:36-48.
8. Castells M, Marin S, Sanchis V, Ramos AJ. Distribution of fumonisins and Aflatoxins in Corn Fractions During Industrial Cornflake Processing, International Journal of Food Microbiology, 2008; 123:81-87.
9. Myahy A. Isolated Aspergillus and aflatoxin determination in fish meal, corn, soybean Vknjalh. Journal of nectar Chamran University, No. 17, 1386;pp .95-105.
10. International crops research Institute for the semi arid tropics, Aflatoxins in food. WWW.Aflatoxin.info.asp. 2004.
11. Lanyasunya TP, Wamae LW, Musa HH, Olowofeso O, Lokwaleput IK. The risk of mycotoxins contamination of dairy feed and milk on smallholder. Journal of Nutrition, 4, 3 2005;162-169.
12. Schweitzer SH, Quist CR, Grimes GL, Forster DL. Aflatoxin levels in corn available as wild turkey feed in Georgia. Journal of Wildlife Diseases, 37, 3. 2001; 657-659.
13. Hofstad MS. Disease of poultry, Iowa State University Ames USA, 1984.
14. Plasencia J. Aflatoxin in maize: A Mexican perspective. Journal of Toxicology, 23.2004; 155-177.
15. Johri TS. Exogenous toxicants. Central Avian Research Institute, 2005.
16. Smela ME, Curier S.S. The chemistry and biology of aflatoxin B1, carcinogenesis. Journal of Wildlife Diseases, 22, 2001; 535-545.
17. Mohiudin S.M. Effects of aflatoxin on immune respons in viral disease. Poultry Adviser, (1993) 63 - 66.

18. Villa P. Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in Breakfast Cereals Frome Athens Market: Occurrence and Risk Assessment, *Food Control*, 2009; 20:455-461.
19. Molinie A, Faucet V, Castegnaro M, Pfohl-Leszkowicz A. Analysis of Some Breakfast Cereals on the French Market for Their Contents of Ochratoxin A, Citrinin and Fumonisin B1:D development of A Method for Simultaneous Extraction of Ochratoxin A and Citrinin, *Food Chemistry*, 2005; 92:391-400.
20. Kabak B. Ochratoxin A in Cereal-Derived Products in Turkey: Occurrence and Exposure Assessment, *Food and Chemical Toxicology*, 2009; 47:348-352.
21. Flajs D, Domijan A.M, Lvic D, Cvjetkovic B, Peracia M. ELISA and HPLC Analysis of Ochratoxin A in Red Wines of Croatia, *Food Control*, 2009; 20:590-592.
22. Hashemi H. Measure Aflatoxin M1 in pasteurized milk consumption babol city. *Tehran University of Medical Sciences*, No. 65, 1386; p.20-24.
23. Alborzi S. Aflatoxin M1Contaminaion in Pasteurized Milk in Shiraz (south of Iran), *Food Control*, 2006; 17:582-584.
24. Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran, *Food Control*, 2005; 16:593-599
25. Kamkar A. A Study on the Occurrence of Aflatoxin M1 in Iranian Feta Cheese, *Food Control*, 2005; 16:257-261.
26. Bhat RV, Vasanthi S. Mycotoxin food safty risk in developing countries, *Food. Agriculture and Environment*, 2003; 1-2.
27. Thorpe W, Muriuki HG, Omore A, Steal S. Dairy development in Kenya :The past ,the present and the future. Paper presented at the annual symposium of The Animal Production Society of Kenya, Nairobi, 2000; 22-23.
28. Kenya Ministry of Health (KMOH), Outbreak of aflatoxin poisoning in Eastern and central provinces, Kenia, Nairobi, 2005; 1-5.
29. Fischer J.R, Jain AV, Shipes DA, Osborne JS. Aflatoxin contamination of corn used as bait for deer in the southeatern United States. *Journal of Wildlife Diseases*, 31,1995; 570-572.