

## فراوانی اکرآتوکسین A در آردهای مصرفی نان سنگک و اثر فرایندهای تخمیر و پخت بر آن

فاطمه محمدحسینی<sup>۱</sup>، مریم میرلوحی<sup>۲</sup>، منصوره تقی‌زاده<sup>۱</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** اکرآتوکسین A نوعی سم قارچی با خطرات اثبات شده‌ای برای سلامتی انسان است و گندم و مواد غذایی مشتق از آن می‌توانند ناقل حدودی از این سم به رژیم غذایی انسان باشند. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی میزان فراوانی اکرآتوکسین A در نمونه‌های آرد نان سنگک و بررسی اثر عملیات نانوائی بر غلظت موجود در آلوده‌ترین نمونه‌های آرد بود.

**روش‌ها:** غلظت اکرآتوکسین در ۳۰ نمونه آرد سنگک با روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) رقابتی و با استفاده از کیت تجارتي اندازه‌گیری شد. آلوده‌ترین نمونه‌ها تحت فرایند نانوائی شامل تخمیر با مخمر نانوائی ساکارومایسیس سروزیه و تخمیر با مخمر همراه با لاکتوباسیلوس پلانترام (Lactobacillus plantarum A7) یا (L. plantarum A7) قرار گرفتند و غلظت اکرآتوکسین در طول فرایند تهیه نان سنگک اندازه‌گیری گردید.

**یافته‌ها:** آلودگی به اکرآتوکسین A در کلیه نمونه‌های آرد مورد آزمایش مشاهده شد. محدوده غلظت و میانگین اکرآتوکسین به ترتیب ۱/۷۲۳- (Limit of Determination) LOD و ۱/۰۲۵ نانوگرم بر گرم به دست آمد. هر دو فرایند تخمیر و پخت، به طور معنی‌داری سم اکرآتوکسین را کاهش داد ( $P < 0/05$ ) و غلظت هیچ یک از نمونه‌ها بیش از حداکثر مجاز تعیین شده توسط اتحادیه اروپا (۵ نانوگرم بر گرم) نبود. در فرایند تخمیر با مخمر ساکارومایسیس سروزیه و مخلوط مخمر و لاکتوباسیلوس پلانترام، به ترتیب کاهش معادل ۷ و ۱۵ درصد مشاهده شد. فرایند پخت نیز میزان اکرآتوکسین را ۲۴ درصد کاهش داد.

**نتیجه‌گیری:** نمونه‌های آرد و نان سنگک موجود در بازار از نظر آلودگی به اکرآتوکسین A، باید آلودگی پایین‌تر از حد مجاز داشته باشند. فرایند پخت، تخمیر با مخمر و افزودن کشت لاکتیکی به محیط تخمیر، اکرآتوکسین را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد.

**واژه‌های کلیدی:** آرد، سم‌زدایی، نان، تخمیر، ساکارومایسیس سروزیه، لاکتوباسیلوس پلانترام، اکرآتوکسین A

**ارجاع:** محمدحسینی فاطمه، میرلوحی مریم، تقی‌زاده منصوره. فراوانی اکرآتوکسین A در آردهای مصرفی نان سنگک و اثر فرایندهای تخمیر و پخت بر آن. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۶؛ ۱۳ (۳): ۳۲۲-۳۲۷

پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۵/۱۲

دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۸

### مقدمه

مایکوتوکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه قارچی با وزن مولکولی پایین (در حدود ۷۰۰ دالتون) هستند که یکی از مهم‌ترین معضلات ایمنی غذا در سال‌های اخیر محسوب می‌شوند (۱، ۲). اکرآتوکسین A نوعی مایکوتوکسین ایزوکومارین کلرینه مشتق شده از فیل آلانین است که توسط برخی از گونه‌های پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس توکسین‌زا و به دنبال رشد بر روی مواد غذایی و خوراک دام تولید می‌شود (۳).

اکرآتوکسین A، محدوده وسیعی از مواد غذایی مورد مصرف انسان شامل غلات، ادویه‌ها، مغزها، میوه‌های خشک، قهوه و آب انگور را آلوده می‌کند. این مایکوتوکسین به علت اثرات نفروتوکسیک، ایمونوتوکسیک، موتاژنیک و ترانوژنیک، خطر بالقوه‌ای برای سلامت انسان به شمار می‌رود (۴، ۵). علاوه بر این، اکرآتوکسین A از طرف آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer یا IARC) در گروه ۲B عوامل سرطان‌زا در انسان طبقه‌بندی شده و به عنوان عامل نفروپاتی اندمیک بالکان و سرطان بخش فوقانی مجاری کلیوی در انسان شناخته شده است (۶).

یکی از مهم‌ترین معضلات ایمنی غذا در کشورهای آسیایی، وجود مایکوتوکسین‌های مختلف در غذاهای اصلی مردم این قاره از جمله غلات می‌باشد (۷). از غلات مهم مصرفی در آسیا به گندم می‌توان اشاره نمود که محصولات حاصل از آن بخش عمده‌ای از رژیم غذایی جمعیت کشورهای جهان سوم را در برمی‌گیرد و مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر، وجود مایکوتوکسین‌های مختلف و در برخی موارد وجود توأم آن‌ها را در این محصول گزارش نمودند (۸-۱۰). نان سنگک از محبوب‌ترین نان‌های سنتی مصرفی در ایران است که در فرایند تخمیر آن به طور عمده از مخمر ساکارومایسیس سروزیه استفاده می‌گردد (۱۱). بر اساس گزارش‌های پیشین، این مخمر توانایی پیوند شدن با مایکوتوکسین‌ها و کاهش دسترسی تغذیه‌ای آن‌ها را دارد (۱۲).

با توجه به مخاطرات ایمنی غذا ناشی از وجود اکرآتوکسین A در رژیم غذایی مصرف کنندگان و عدم انجام پژوهشی در مورد آلودگی این سم قارچی در نان سنگک، مطالعه حاضر با هدف تعیین وضعیت نان سنگک به عنوان یکی از محبوب‌ترین و پرمصرف‌ترین نان‌ها در ایران به اکرآتوکسین A و اثرات فرایند تخمیر و پخت این نان بر این مایکوتوکسین انجام شد.

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: mirlohi@hlth.mui.ac.ir

نویسنده مسؤول: مریم میرلوحی

## روش‌ها

این تحقیق از نوع توصیفی-تحلیلی و جامعه آماری آن مشتمل بر آردهای نان سنگک عرضه شده در شهرهای شیراز و اصفهان بود. در مجموع، ۳۰ نمونه آرد سنگک به صورت تصادفی ساده از ۴ کارخانه و ۱۵ نانوايي دو شهر مذکور جمع‌آوری گردید و در شرایط مناسب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انتقال یافت و تا زمان انجام مطالعه در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

باکتری لاکتوباسیلوس مورد استفاده در مطالعه حاضر، گونه خاصی از لاکتوباسیلوس پلاننتاروم (*Lactobacillus plantarum* A7) یا *L. plantarum* A7 تهیه شده از کلکسیون میکروبی دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بود که به صورت غیر فعال در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد. به منظور فعال‌سازی، باکتری در محیط کشت مایع یا آبگوشتی تحت دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد و در محیط بی‌هوازی به مدت دو شبانه‌روز گرمخانه‌گذاری گردید. جهت تعیین تراکم باکتریایی، دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر با کدورت معادل McFarland مورد استفاده قرار گرفت و تراکم  $10^{11}$  کلنی در میلی‌لیتر تعیین شد.

به منظور آماده‌سازی خمیر، ۲۵۰ گرم آرد به همراه ۱/۲ درصد نمک و ۰/۵ درصد مخمر صنعتی فوری ساکارومایسس سروریه (کارخانه فریمان، مشهد) و میزان کافی آب (۲۳۰-۲۵۰ میلی‌لیتر) مخلوط گردید و سپس به مدت دو ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد (مطابق با نانوايي‌ها) استراحت داده شد. خمیر پس از فرایند تخمیر تحت دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه در کوره چرخان صنعتی پخته شد. دمای درونی نان پخته شده با استفاده از دماسنج میله‌ای حدود ۹۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید.

۵ گرم از نمونه هموزن شده آرد به یک لوله تمیز انتقال یافت و ۱۰ میکرولیتر اسید فسفریک ۰/۵ مولار به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد. سپس ۲۰ میکرولیتر دی‌کلرومتان نیز اضافه و دوباره مخلوط گردید. پس از آن، لایه بالایی خارج و مجدد به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ سانتریفوژ شد و با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید. ۱۲ میکرولیتر از محلول صاف شده به یک لوله شیشه‌ای انتقال یافت و تحت جریان نیتروژن ملایم تبخیر و خشک گردید و به کمک ۱/۵ میلی‌لیتر بافر که توسط شرکت EuroProxima به همراه کیت (ELISA) Enzyme-linked immunosorbent assay ارسال شده بود، استخراج گردید. کل مواد باقی‌مانده در لوله دوباره حل شد و پس از افزودن دو میکرولیتر هگزان به محلول ذکر شده، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه (g) (۲۰۰۰) سانتریفوژ گردید. لایه هگزان فوقانی حذف و ۵۰ میکرولیتر از لایه زیرین با ۲۰۰ میکرولیتر محلول بافر رقیق شد. در نهایت، ۵۰ میکرولیتر از این عصاره برای هر چاهک در آزمون مورد استفاده قرار گرفت (۱۳-۹).

۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد اکرآتوکسین A (۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۵

۱۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر) و نمونه‌های آماده شده برای آزمون، هر یک در دو تکرار به چاهک‌ها اضافه گردید. ۲۵ میکرولیتر آنزیم کونژوگه و ۲۵ میکرولیتر محلول آنتی‌بادی به هر چاهک اضافه شد. این مخلوط به آرامی به مدت چند ثانیه مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در تاریکی گرمخانه‌گذاری گردید. محلول‌ها از چاهک دور ریخته شد و با بافر شستشو سه بار شستشو داده شد. پس از آن، ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا به هر چاهک اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گرمخانه‌گذاری گردید. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده به هر چاهک اضافه شد و جذب در ۴۵۰ نانومتر به وسیله دستگاه ELISA Reader (Awareness Technology model ON-5657، آمریکا) اندازه‌گیری شد (۱۳-۹).

داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون‌های ANOVA و Paired t (مقایسه میانگین‌های اکرآتوکسین در دو تیمار تخمیر) در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری داده‌ها در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در مجموع، ۳۰ نمونه آرد جمع‌آوری شده از دو شهر اصفهان و شیراز، خمیر شد و نان حاصل از آلوده‌ترین نمونه‌ها از نظر درصد و میزان سطح آلودگی به اکرآتوکسین A مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که تمامی نمونه‌های آزمایش شده به این توکسین قارچی آلوده بودند. جدول ۱ میزان درصد آلودگی و تعداد نمونه‌های آلوده را در هر بازه به تفکیک نشان می‌دهد.

جدول ۱. میزان غلظت اکرآتوکسین A در آرد

محدوده آلودگی (نانوگرم بر گرم)	LOD-۰/۵	۰/۵-۱	۱-۱/۵	۱/۵-۲
آردها در هر محدوده آلودگی (تعداد (درصد))	۲ (۶/۷)	۱۰ (۳۳/۳)	۱۵ (۵۰/۰)	۳ (۱۰/۰)

LOD: Limit of Determination

دامنه تغییرات غلظت اکرآتوکسین A در نمونه‌های آرد، ۱/۷۲ نانوگرم بر گرم تا کمترین مقدار قابل اندازه‌گیری کیت (در حدود ۰/۲۵ نانوگرم بر گرم) تعیین گردید و میانگین آن، ۱/۰۲۵ نانوگرم بر گرم به دست آمد. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین میزان آلودگی آردهای جمع‌آوری شده از دو شهر اصفهان و شیراز مشاهده نگردید. میانگین یافته‌های به دست آمده از غلظت اکرآتوکسین نمونه‌های آزمایشی در جدول ۲ ارایه شده است.

جدول ۲. میزان اکرآتوکسین A (نانوگرم بر گرم ماده خشک) در مراحل تهیه نان سنگک

نوع نمونه	مخمّر + لاکتوباسیلوس پلاننتاروم A7		P (آزمون Paired t)
	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	
خمیر (قبل از انجام فرایند تخمیر)	۰/۵۶ ± ۰/۰۵	۰/۵۷ ± ۰/۰۴	۰/۰۲۰
خمیر تخمیر شده	۰/۵۲ ± ۰/۰۲	۰/۴۸ ± ۰/۰۳	۰/۰۰۵
نان	۰/۴۰ ± ۰/۰۲	۰/۳۶ ± ۰/۰۲	۰/۰۰۵
P (آزمون ANOVA)	< ۰/۰۱۰	< ۰/۰۱۰	

استاندارد ملی و اتحادیه اروپا (۵ نانوگرم بر گرم) بودند (۱۰). محدوده و میانگین آلودگی میزان اکراتوکسین A در نان‌های شهرکرد به ترتیب ۰/۱۹-۰/۳۷ و ۱/۴۷ ± ۲/۶۱ نانوگرم بر گرم گزارش شد و ۱۷/۴ درصد از ۸۶ نمونه مورد بررسی، میزان آلودگی بالاتر از حد مجاز داشتند (۹).

نتایج تحقیق Zhang و همکاران در چین نشان داد که ۳۶/۳۶ درصد از نمونه گندم‌های مورد بررسی به اکراتوکسین A آلوده بود. میانگین آلودگی در نمونه‌های آنان، ۴/۲۵ نانوگرم بر گرم به دست آمد و میزان آلودگی در ۴/۵ درصد از نمونه‌ها خارج از حد مجاز گزارش گردید (۱۶). نتایج مثبت آلودگی در پژوهش‌های انجام شده در کشورهای تونس (۱۷)، اسپانیا (۱۸)، قطر (۱۹)، آفریقای جنوبی (۲۰)، عربستان سعودی (۲۱) و آمریکا (۲۲، ۲۱)، شیوع و فراوانی آلودگی به این سم قارچی را در کشورهای مختلف متذکر می‌شود.

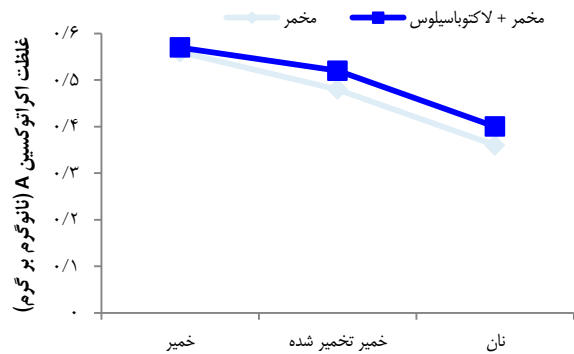
در سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر توانایی باند شدن ساکارومایسس و لاکتوباسیلوس با میکوتوکسین‌ها ارائه شده است (۲۵-۲۲). در مطالعه Zákowska و Piotrowska، کاهش اکراتوکسین با استفاده از لاکتوباسیلوس‌ها انجام شد و بالاترین درصد کارایی از به کارگیری *Lactobacillus plantarum* BS (L. plantarum BS)، *Lactobacillus rhamnosus* و *Lactobacillus acidophilus* GH-5 و *L. rhamnosus* GG (L. rhamnosus GG) به دست آمد (۲۶). در مطالعات پیشین، اثرات مطلوبی در خصوصیات مهم فیزیوشیمیایی، ارگانولپتیکی و رئولوژیکی نان از به کار بردن لاکتوباسیلوس‌ها در ترکیب خمیر گزارش شده است (۲۷). بر اساس نتایج برخی تحقیقات، پیتیدوگلیکان دیواره سلولی موجب پیوند اکراتوکسین و گونه‌های لاکتوباسیلوس‌ها می‌شود (۲۸). پروتئین‌ها و گلوکان‌ها، جایگاه‌های پیوند سهل‌الوصول و فراوانی را با مکانیسم‌های متفاوت اتصال مانند پیوند هیدروژنی، یونی و یا فعل و انفعالات هیدروفوبیک فراهم می‌آورند (۲۹). در مطالعه حاضر، فرایند پخت در کاهش اکراتوکسین A، اثربخش‌تر از فرایند تخمیر بود، اما قابلیت حذف کامل آن را نداشت.

با توجه به مقدار مجاز اکراتوکسین A برای غذاهای آماده مصرف از جمله نان (۳ نانوگرم بر گرم)، تمامی نمونه‌های نان پخته شده آلودگی پایین‌تر از حد مجاز داشتند. از آن‌جا که این آزمایش بر روی آلوده‌ترین نمونه‌ها انجام شد، نتایج نشان دهنده ضریب بالای سلامت نان سنگک موجود در بازار از نظر آلودگی به اکراتوکسین A می‌باشد. این موضوع با توجه به نقش نان در سبذ غذایی ایران بسیار حایز اهمیت است (۳۲-۳۰). اثربخشی فرایند حرارتی در مطالعه حاضر همسو با نتایج تحقیق Subirade (۳۳) همخوانی داشت. آن‌ها کاهش ۳۲ درصدی اکراتوکسین را در پخت بیسکوئیت گزارش کردند. در توجیه این نتیجه می‌توان گفت که در مرحله پخت، گرمای اعمال شده به خمیرهای به کار رفته، جایگاه‌های اتصال بیشتری را جهت کاهش اکراتوکسین فراهم می‌کند (۳۵، ۳۴، ۳۲). با وجود تأثیر قابل توجه فرایند پخت در مطالعه حاضر، در برخی دیگر از تحقیقات، اثر فرایند حرارتی در کاهش غلظت اکراتوکسین ناچیز معرفی شده است (۳۳).

### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر اطلاعاتی را در مورد صحت سلامت آرد و نان سنگک در ایران از نظر آلودگی به سم اکراتوکسین ارائه نمود و اثرات مطلوب فرایند تخمیر و پخت را در کاهش میزان اکراتوکسین نشان داد. با توجه به دریافت این سم از دیگر

تمامی اعداد موجود در جدول بر اساس وزن خشک می‌باشد. تفاوت میان تیمارهای تخمیر شده با مخمر و مخمر به همراه لاکتوباسیلوس در هر مرحله از فرایند تخمیر و پخت به شکل مقایسات جفتی در سطح افقی جدول و تغییرات میانگین غلظت در هر نمونه با استفاده از آزمون ANOVA در ستون عمودی جدول نشان داده شده است. مقایسه آلودگی در مراحل مختلف تهیه نان نیز در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. مقایسه میانگین آلودگی در سه مرحله تهیه نان سنگک (نانوگرم بر گرم)

در طی مراحل پخت نان سنگک، کاهش میزان اکراتوکسین A به وضوح قابل مشاهده بود ( $P < 0.010$ )؛ به گونه‌ای که تخمیر انجام شده با ساکارومایسس سرریزیه، ۷ درصد و مرحله پخت، ۲۴ درصد از آلودگی اکراتوکسین را کاهش داد. تفاوت معنی‌داری میان میانگین غلظت آلودگی اکراتوکسین A در خمیر، نان تخمیر شده با مخمر و مخمر به همراه لاکتوباسیلوس وجود داشت ( $P < 0.050$ ). ۸ درصد کاهش بیشتر میزان اکراتوکسین در فرایند تخمیر انجام شده در ترکیب مخمر و لاکتوباسیلوس پلانتاروم A7 نسبت به فرایند تخمیر معمول، مشاهده گردید.

### بحث

نتایج بررسی حاضر نشان داد که اکراتوکسین A در تمام نمونه‌های مورد آزمایش یافت شد و آلودگی در هیچ یک از نمونه‌های آرد مورد بررسی بیشتر از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران و اتحادیه اروپا (۵ نانوگرم بر گرم) نبود (۱۵، ۱۴). این موضوع نشان می‌دهد که با وجود آلودگی، آردهای سنگک از نظر شدت آلودگی به این سم قارچی، در محدوده مجاز قرار دارند. در خصوص تعیین وضعیت آلودگی گندم و مشتقات آن به اکراتوکسین A در مطالعات ملی و بین‌المللی انجام شده پیشین، نتایج بسیار متناقضی مشاهده می‌شود.

در ایران دو تحقیق بر حضور و شدت آلودگی نمونه‌های گندم و نان به اکراتوکسین A صورت گرفته است. شدت آلودگی در نمونه‌های گندم بررسی شده در پژوهش محمودی و همکاران (۱۰)، از نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر بالاتر بود؛ به طوری که وجود اکراتوکسین در تمام نمونه‌های گندم مشاهده شد و بازه آلودگی آن ۸/۱۹-۱/۱۳ نانوگرم بر گرم تعیین گردید. ۲۰ درصد نمونه‌های مورد آزمایش مطالعه آن‌ها حاوی آلودگی فراتر از حد مجاز

## تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با کد ۴۹۳۰۸۷. مصوب مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان از حمایت‌ها و زحمات مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

منابع غذایی و امکان وجود هم‌زمان دیگر میکوتوکسین‌ها در این منابع و مخاطرات آن بر سلامت انسان، انجام مطالعات جامع به شکل ارزیابی خطر جمعی سموم قارچی پیشنهاد می‌گردد. از طرف دیگر، تشویق و تقویت به کار گرفتن میکروارگانیسم‌های مفید با قابلیت تخمیر در فرایند تهیه نان و کاربرد آن در صنعت نان کشور و اقداماتی جهت پیشگیری از آلوده شدن گندم و آرد، می‌تواند موضوع مطالعات آینده باشد.

## References

1. Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Anal Chim Acta* 2009; 632(2): 168-80.
2. Mohammad-Hasani F, Mirlohi M, Mosharraf L, Hasanzade A. Occurrence of aflatoxins in wheat flour specified for sangak bread and its reduction through fermentation and baking. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods* 2016; 8(4): 501-8.
3. Reddy KR, Reddy CS, Muralidharan K. Exploration of ochratoxin a contamination and its management in rice. *Am J Plant Physiol* 2007; 2(3): 206-13.
4. Juan C, Molto JC, Lino CM, Manes J. Determination of ochratoxin A in organic and non-organic cereals and cereal products from Spain and Portugal. *Food Chem* 2008; 107(1): 525-30.
5. Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull World Health Organ* 1999; 77(9): 754-66.
6. Monaci L, Palmisano F. Determination of ochratoxin A in foods: State-of-the-art and analytical challenges. *Anal Bioanal Chem* 2004; 378(1): 96-103.
7. Corke H. Foreword-Asia's food safety and quality problems are global problems. *Qual Assur Saf Crop* 2014; 7(1): 1-2.
8. Riba A, Bouras N, Mokrane S, Mathieu F, Lebrihi A, Sabaou N. *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxins in Algerian wheat and derived products. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(10): 2772-7.
9. Rahimi E, Erfani M, Shakerian A. Frequency of ochratoxin A in bread consumed in Shahrekord. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2014; 16(2): 63-9. [In Persian].
10. Mahmoudi M, Aryaee P, Ghanbari M, Nourafcan H. The determination of aflatoxin and ochratoxin of flour and wheat in Northern Iran. *Proceedings of the 19<sup>th</sup> International Conference on Environment, Agriculture and Food Sciences (ICEAFS'2012)*; 2012 Aug. 11-12; Phuket, Thailand.
11. Mosharraf L, Kadivar M, Shahedi M. Effect of hydrothermally treated bran on physicochemical, rheological and microstructural characteristics of Sangak bread. *J Cereal Sci* 2009; 49(3): 398-404.
12. Bueno DJ, Casale CH, Pizzolitto RP, Salvano MA, Oliver G. Physical adsorption of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*: A theoretical model. *J Food Prot* 2007; 70(9): 2148-54.
13. American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the American association of cereal chemists. Eagan, Minnesota: AACC; 2000.
14. Institute of Standard and Industrial Research of Iran. Food and agricultural products-method of sampling for official control of the levels of Mycotoxins in foodstuffs. ISIRI, No. 12004 [Online]. [cited 2008]; Available from: URL: <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=13467>.
15. Commission Regulation (EC). Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs [Online]. [cited 2006]; Available from: URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/usefulinf/files/es401-2006.pdf>.
16. Zhang A, Ma Y, Feng L, Wang Y, He C, Wang X, et al. Development of a sensitive competitive indirect ELISA method for determination of ochratoxin A levels in cereals originating from Nanjing, China. *Food Control* 2011; 22(11): 1723-8.
17. Zaied C, Abid S, Zorgui L, Bouaziz C, Chouchane S, Jomaa M, et al. Natural occurrence of ochratoxin A in Tunisian cereals. *Food Control* 2009; 20(3): 218-22.
18. Blesa J, Berrada H, Soriano JM, Molto JC, Manes J. Rapid determination of ochratoxin A in cereals and cereal products by liquid chromatography. *J Chromatogr A* 2004; 1046(1-2): 127-31.
19. Abdulkadar AHW, Al-Ali AA, Al-Kildi AM, Al-Jedah JH. Mycotoxins in food products available in Qatar. *Food Control* 2004; 15(7): 543-8.
20. Mashinini K, Dutton MF. The incidence of fungi and mycotoxins in South Africa wheat and wheat-based products. *J Environ Sci Health B* 2006; 41(3): 285-96.
21. Ewaidah EH. Ochratoxin a and aflatoxins in 1989 Saudi wheat. *Food Sci Technol* 1992; 27(6): 697-700.
22. Shotwell OL, Goulden ML, Bennett GA, Plattner RD, Hesseltine CW. Survey of 1975 wheat and soybeans for aflatoxin, zearalenone, and ochratoxin. *J AOAC Int* 1977; 60(4): 778-83.
23. Chiotta ML, Ponsone ML, Combina M, Chulze SN. *Aspergillus* and Ochratoxin A in Latin America. In: Garg N, Abdel-Aziz SM, Aeron A, Editors. *Microbes in Food and Health*. Berlin, Germany: Springer; 2016. p. 265-87.
24. Shetty PH, Jespersen L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci Technol* 2006; 17(2): 48-55.
25. Shetty PH, Hald B, Jespersen L. Surface binding of aflatoxin B1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential

- decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int J Food Microbiol* 2007; 113(1): 41-6.
26. Piotrowska M, Zakowska Z. The elimination of ochratoxin A by lactic acid bacteria strains. *Pol J Microbiol* 2005; 54(4): 279-86.
  27. Gul H, Ozcelik S, Sagdic O, Certel M. Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry* 2005; 40(2): 691-7.
  28. Lahtinen SJ, Haskard CA, Ouwehand AC, Salminen SJ, Ahokas JT. Binding of aflatoxin B1 to cell wall components of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Food Addit Contam* 2004; 21(2): 158-64.
  29. Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol Lett* 2001; 122(2): 179-88.
  30. Falah Joshaghani S, Hamdami N. Effect of Pre-fermentation and frozen storage on Frozen Sangak Dough Quality. *J Health Syst Res* 2014; 10(3): 457-68. [In Persian].
  31. Ayati SV, Hamdami N, Hosseini P. Effect of dough thickness and pre-fermentation on frozen sangak dough and its bread quality. *J Health Syst Res* 2013; (Special Issue on Nutrition): 1605-13. [In Persian].
  32. Nourian M, Sheklabadi E, Ashrafi M, Yahai M, Pourkhalili A, Khaje M. An evaluation of the phytate content of some selected breads in Isfahan. *J Health Syst Res* 2015; 11(1): 163-9. [In Persian].
  33. Subirade I. Fate of ochratoxin A during breadmaking. *Food Addit Contam* 1996; 13(Suppl): 25-6.
  34. Scudamore KA, Banks J, MacDonald SJ. Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production. *Food Addit Contam* 2003; 20(12): 1153-63.
  35. Bullerman LB, Bianchini A. Stability of mycotoxins during food processing. *Int J Food Microbiol* 2007; 119(1-2): 140-6.

## Prevalence of Ochratoxin A in Sangak Bread Flour and the Effect of Baking and Fermentation on this Contaminant

Fatemeh Mohamad-Hassani<sup>1</sup>, Maryam Mirlohi<sup>2</sup>, Mansoureh Taghizadeh<sup>1</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Ochratoxin A is a mycotoxin with recognized human health hazards which can be transferred through contaminated wheat and wheat products. The aim of this study was to examine flour samples specified for Sangak bread in terms of ochratoxin contamination levels and to study the effect of the baking process on toxin concentrations amongst the most contaminated products.

**Methods:** Ochratoxin A concentration was examined in 30 flour samples using a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) commercial kit. The most contaminated samples were then screened and subjected to bakery processes including fermentation with yeast/yeast plus lactobacillus plantarum A7, and the concentration of ochratoxin A was measured during Sangak bread preparation.

**Findings:** Ochratoxin A was detected in all tested samples; however, none of them exceeded the regulated limit (5 ng/g) in flour. Ochratoxin concentration ranged from limit of determination (LOD) to 1.723 ng/g and average ochratoxin was 1.025 ng/g. Both fermentation and baking significantly decrease the amount of ochratoxin A ( $P > 0.01$ ) from primary levels. Fermentation processes using *Saccharomyces cerevisiae* and the mixture of *Saccharomyces cerevisiae* and *L. plantarum*, and baking reduced ochratoxin A by 7%, 15%, and 24%, respectively.

**Conclusion:** Sangak flour and bread samples distributed in bakeries must have Ochratoxin A contamination levels of lower than the standard amounts. Traditional bakery practices including oven baking, dough fermentation using yeast and yeast plus lactic culture significantly decrease Ochratoxin A in dough.

**Keywords:** Flour, Decontamination, Bread, Fermentation, *Saccharomyces Cerevisiae*, *Lactobacillus Plantarum*, Ochratoxin A

**Citation:** Mohamad-Hassani F, Mirlohi M, Taghizadeh M. Prevalence of Ochratoxin A in Sangak Bread Flour and the Effect of Baking and Fermentation on this Contaminant. J Health Syst Res 2017; 13(3): 322-7.

1- Department of Food Sciences and Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran  
2- Associate Professor, Food Security Research Center AND Department of Food Sciences and Technology, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

**Corresponding Author:** Maryam Mirlohi, Email: mirlohi@hlth.mui.ac.ir