

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

فاطمه محمدحسنی^۱، مریم میرلوحی^۲، منصوره تقیزاده^۱

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: اکراتوکسین 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 اکراتوکسین A در نمونه‌های آرد نان سنگک و بررسی اثر عملیات نانوایی بر غلظت موجود در آبوده‌ترین نمونه‌های آرد بود.

روش‌ها: غلظت اکراتوکسین در ۳۰ نمونه آرد سنگک با روش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (ELISA) رقابتی و با استفاده از کیت تجاری اندازه‌گیری شد. آبوده‌ترین نمونه‌ها تحت فرایند نانوایی شامل تخمیر با مخمر نانوایی ساکارومایسین سروزیه و تخمیر با مخمر همراه با لاکتوباسیلوس پلاتاروم A7 (Lactobacillus plantarum A7) قرار گرفتند و غلظت اکراتوکسین در طول فرایند تهیه نان سنگک اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: آبودگی به اکراتوکسین A در کلیه نمونه‌های آرد مورد آزمایش مشاهده شد. محدوده غلظت و میانگین اکراتوکسین به ترتیب $1/723$ (Limit of Determination)- $1/025$ LOD و $1/025$ نانوگرم بر گرم به دست آمد. هر دو فرایند تخمیر و پخت، به طور معنی داری سم اکراتوکسین را کاهش داد ($P < 0.05$) و غلظت هیچ یک از نمونه‌ها بیش از حدآکثر مجاز تعیین شده توسط اتحادیه اروپا (۵ نانوگرم بر گرم) نبود. در فرایند تخمیر با مخمر ساکارومایسین سروزیه و مخلوط مخمر و لاکتوباسیلوس پلاتاروم، به ترتیب کاهشی معادل ۷ و ۱۵ درصد مشاهده شد. فرایند پخت نیز میزان اکراتوکسین را ۲۴ درصد کاهش داد.

نتیجه‌گیری: نمونه‌های آرد و نان سنگک موجود در بازار از حد مجاز داشته باشند. فرایند پخت، تخمیر با مخمر و افزودن کشت لاکتیکی به محیط تخمیر، اکراتوکسین را به طور معنی داری کاهش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آرد، سم زدایی، نان، تخمیر، ساکارومایسین سروزیه، لاکتوباسیلوس پلاتاروم، اکراتوکسین A

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

پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۵/۱۲

دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۲/۸

یکی از مهم‌ترین معضلات اینی غذا در کشورهای آسیایی، وجود مایکوتوكسین‌های 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 جمیعت کشورهای جهان سوم را بر می‌گیرد و مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر، وجود مایکوتوكسین‌های 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 عمدی از مخمر ساکارومایسین سروزیه استفاده می‌گردد (۱۱). بر اساس گزارش‌های پیشین، این مخمر توانایی پیوند شدن با مایکوتوكسین‌ها و کاهش دسترسی تغذیه‌ای آن‌ها را دارد (۱۲).

با توجه به مخاطرات اینی غذا ناشی از وجود اکراتوکسین A در رژیم غذایی مصرف کنندگان و عدم انجام پژوهشی در مورد آبودگی 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 اکراتوکسین A و اثرات فرایند تخمیر و پخت این نان بر این مایکوتوكسین انجام شد.

مقدمه

مایکوتوكسین‌ها، متabolیت‌های ثانویه قارچی با وزن مولکولی پایین (در حدود ۷۰۰ دالتون) هستند که یکی از مهم‌ترین معضلات اینی غذا در سال‌های اخیر محسوب می‌شوند (۱، ۲). اکراتوکسین A نوعی مایکوتوكسین ایزوکومارین کلرینه مشتق شده از فنیل آلانین است که توسط برخی از گونه‌های پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس توکسین‌زا و به دنبال رشد بر روی مواد غذایی و خوارک دام تولید می‌شود (۳).

اکراتوکسین A، محدوده وسیعی از مواد غذایی مورد مصرف انسان شامل غلات، ادویه‌ها، مغزهای، میوه‌های خشک، قهوه و آب انگور را آبوده می‌کند. این مایکوتوكسین به علت اثرات نفروتوكسیک، ایموتونوتوكسیک، موتازنیک و تراوتونیک، خطر بالقوه‌ای برای سلامت انسان به شمار می‌رود (۴، ۵). علاوه بر این، اکراتوکسین A از طرف آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) یا International Agency for Research on Cancer در گروه ۲B عوامل سلطان‌زا در انسان طبقه‌بندی شده و به عنوان عامل نفوذیاتی اندمیک بالکان و سرطان بخش فوقانی مجاری کلیوی در انسان شناخته شده است (۶).

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

Email: mirlohi@hlth.mui.ac.ir

نویسنده مسؤول: مریم میرلوحی

۱۰ نانوگرم بر میلی لیتر) و نمونه‌های آماده شده برای آزمون، هر یک در دو تکرار به چاهک‌ها اضافه گردید. ۲۵ میکرولیتر آنزیم کوتزوه‌گه 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 ۳۷ درجه سانتی گراد در تاریکی گرمخانه گذاری گردید. محلول‌ها از چاهک دور ریخته شد و با بافر شستشو سه بار شستشو داده شد. پس از آن، ۱۰۰ میکرولیتر سوپسترا به هر چاهک اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق گرمخانه گذاری گردید. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده به هر چاهک اضافه شد و جذب در ۴۵ نانومتر به وسیله دستگاه Awareness Technology model ON-5657 (آمریکا) اندازه‌گیری شد (۹-۱۳).

داده‌های به دست آمده با استفاده از آزمون‌های t و ANOVA مقایسه میانگین‌های اکراتوکسین در دو ییمار تخمیر (IBM Corporation, Armonk, NY) 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 اکراتوکسین 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 اکراتوکسین A در آرد

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

LOD: Limit of Determination

دانمه تغییرات غلظت اکراتوکسین A در نمونه‌های آرد، ۱/۷۲ نانوگرم بر گرم تا کمترین مقدار قابل اندازه‌گیری کیت (در حدود ۲۵ نانوگرم بر گرم) تعیین گردید و میانگین آن، ۱۰/۰۵ نانوگرم بر گرم به دست آمد. لازم به ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین میزان آلودگی آردی‌های جمع‌آوری شده از دو شهر اصفهان و شیراز مشاهده نگردید. میانگین یافته‌های به دست آمده از غلظت اکراتوکسین نمونه‌های آزمایشی در جدول ۲ ارایه شده است.

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

میانگین \pm انحراف معیار	میانگین \pm انحراف معیار	میکرو + لاكتوباسیلوس پلاتاروم A7 P (آزمون t)	میکرو + انحراف معیار	نوع نمونه	
				خمیر (قبل از انجام فرایند تخمیر)	خمیر تخمیر شده
۰/۰۲۰	۰/۰۷ \pm ۰/۰۴		۰/۰۵ \pm ۰/۰۵	۰/۰۵ \pm ۰/۰۵	۰/۰۵ \pm ۰/۰۲
۰/۰۰۵	۰/۰۴۸ \pm ۰/۰۳		۰/۰۵۲ \pm ۰/۰۲	۰/۰۴۰ \pm ۰/۰۲	۰/۰۴ \pm ۰/۰۱
۰/۰۰۵	۰/۰۳۶ \pm ۰/۰۲	< ۰/۰۱۰			

روش‌ها

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

باکتری لاكتوباسیلوس مورد استفاده در مطالعه حاضر، گونه خاصی از لاكتوباسیلوس پلاتاروم A7 (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 ۷- درجه سانتی گراد نگهداری می‌شد. به منظور فعال سازی، باکتری در محیط کشت مایع با آبگوششی تحت دمای ۳۵ درجه سانتی گراد و در محیط بی‌هوایی به مدت دو شبانه‌روز گرمخانه گذاری گردید. جهت تعیین تراکم باکتریایی، دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر با کدورت معادل McFarland مورد استفاده قرار گرفت و تراکم 10^{10} کلی در میلی لیتر تعیین شد.

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

۵ گرم از نمونه هموژن شده آرد به یک لوله تمیز انتقال یافت و ۱۰ میکرولیتر اسید فسفویک (۰/۵ مولار به آن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شد. سپس ۲۰ میکرولیتر دی‌کلرومتان نیز اضافه و دواره مخلوط گردید. پس از آن، لایه بالایی خارج و مجدد به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ سانتی‌فیوز 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 میلی لیتر بافر که توسط شرکت EuroProxima به همراه کیت میکرو + اسید فسفویک (ELISA) 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 (۲۰۰۰ g) سانتی‌فیوز گردید. لایه هگزان فوقانی حذف و ۵۰ میکرولیتر از لایه زیرین با ۲۰۰ میکرولیتر محلول بافر رقيق شد. در نهایت، ۵۰ میکرولیتر از محلول بافر میکرو + اسید فسفویک (۰/۰۵ میلی لیتر) اضافه شد. عصاره برای هر چاهک در آزمون مورد استفاده قرار گرفت (۹-۱۳).

۵ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد اکراتوکسین A (۰/۲۵ میلی لیتر) به

استاندارد ملی و اتحادیه اروپا (۵ نانوگرم بر گرم) بودند (۱۰). محدوده و میانگین آسودگی میزان اکراتوکسین A در نانهای شهرکرد به ترتیب $10/37-0/19$ و $1/47 \pm 2/61$ نانوگرم بر گرم گزارش شد و درصد از ۸۶ نمونه مورد بررسی، میزان آسودگی 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 آسود بود. میانگین آسودگی در نمونههای آنان، $4/25$ نانوگرم بر گرم به دست آمد و میزان آسودگی در $4/5$ درصد از نمونهها خارج از حد مجاز گزارش گردید (۱۶). نتایج مثبت آسودگی در پژوهش‌های انجام شده در کشورهای تونس (۱۷)، اسپانیا (۱۸)، قطر (۱۹)، آفریقای جنوبی (۲۰)، عربستان سعودی (۲۱) و آمریکا (۲۱، ۲۲)، شیوع و فراوانی آسودگی به این سم قارچی را در کشورهای مختلف متذکر می‌شود.

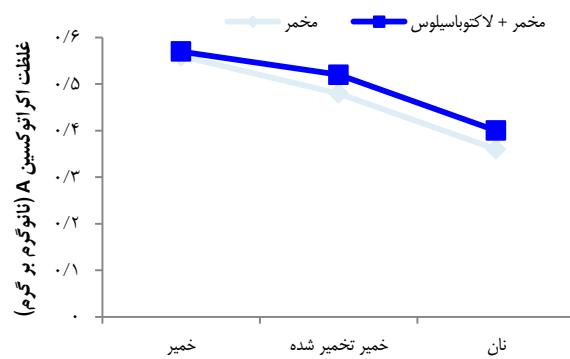
در سال‌های اخیر گزارش‌های مبنی بر توانایی باند شدن ساکارومایسین و لاکتوباسیلوس با مایکوتوكسین‌ها ارایه شده است (۲۲-۲۵). در مطالعه Zakowska و Piotrowska کاهش اکراتوکسین با استفاده از لاکتوباسیلوس‌ها انجام شد و بالاترین درصد کارایی از به کارگیری BS (L. plantarum BS) Lactobacillus plantarum GH-5 Lactobacillus rhamnosus و Lactobacillus acidophilus GG به دست آمد (L. rhamnosus GG) (۲۶). در مطالعات پیشین، اثرات مطلوبی در خصوصیات مهم فیزیکوشیمیایی، ارگانولپتیکی و روپلوزیکی نان از به کار بردن لاکتوباسیلوس‌ها در ترکیب خمیر گزارش شده است (۲۷). بر اساس نتایج برخی تحقیقات، پیتیوگلیکان دیواه سلولی موجب پیوند اکراتوکسین و گونه‌های لاکتوباسیلوس‌ها می‌شود (۲۸). پروتئین‌ها و گلوبولین‌ها، جایگاه‌های پیوند سهل الوصول و فراوانی را با مکانیسم‌های متفاوت اتصال ماند پیوند هیدروژنی، یونی و یا فعل و انفعالات هیدرووفیبیک 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 آسودگی پایین‌تر از حد مجاز داشتند. از آن‌جا که این آزمایش بر روی آسوده‌ترین نمونه‌ها انجام شد، نتایج نشان دهنده ضریب بالای سلامت نان سنگک موجود در بازار از نظر آسودگی به اکراتوکسین A می‌باشد. این موضوع با توجه به نقش نان در سبد غذایی ایران بسیار حائز اهمیت است (۳۰-۳۲). اثربخشی فرایند حرارتی در مطالعه حاضر همسو با نتایج تحقیق Subirade (۳۳) همخوانی داشت. آن‌ها کاهش ۳۲ درصدی اکراتوکسین را در پخت بیسکویت گزارش کردند. در توجیه این نتیجه می‌توان گفت که در مرحله پخت، گرمای اعمال شده به مخمرهای به کار رفته، جایگاه‌های اتصال بیشتری را چهت کاهش اکراتوکسین فراهم می‌کند (۲۲، ۳۴، ۳۵). 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 آسودگی به سم اکراتوکسین ارایه 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 آسودگی در مراحل مختلف تهیه نان نیز در شکل ۱ آمده است.



شکل ۱. مقایسه میانگین آسودگی 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 ساکارومایسین سرویزیه، ۷ درصد و مرحله پخت، ۲۴ درصد از آسودگی اکراتوکسین را کاهش داد. تفاوت معنی‌داری میان میانگین غلظت آسودگی 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 پلاتارتاروم 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 آسودگی در هیچ یک از نمونه‌های آرد مورد بررسی بیشتر از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ایران و اتحادیه اروپا (۵ نانوگرم در گرم) نبود (۱۴، ۱۵). این موضوع نشان می‌دهد که با وجود آسودگی، آردی‌های سنگک از نظر شدت آسودگی به این سم قارچی، در محدوده مجاز قرار دارند. در خصوص تعیین وضعیت آسودگی 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 آسودگی نمونه‌های گندم و نان به اکراتوکسین A صورت گرفته است. شدت آسودگی در نمونه‌های گندم در 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 آسودگی آن $1/13-8/19$ نانوگرم بر گرم تعیین گردید. ۲۰ درصد نمونه‌های مورد آزمایش مطالعه آن‌ها حاوی آسودگی فراتر از حد مجاز

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی با کد ۲۹۳۰۸۷، مصوب مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. بدین وسیله نویسنده‌گان از حمایت‌ها و خدمات مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تشکر و قدردانی به عمل می‌آورند.

منابع غذایی و امکان وجود هم‌زمان دیگر مایکوتوكسین‌ها در این منابع و مخاطرات آن بر سلامت انسان، انجام مطالعات جامع به شکل ارزیابی خطر تجمعی سومون قارچی پیشنهاد می‌گردد. از طرف دیگر، تشویق و تقویت به کار گرفتن میکرووارگانیسم‌های 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

- Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Anal Chim Acta* 2009; 632(2): 168-80.
- Mohammad-Hasani F, Mirlohi M, Mosharraf L, Hasanzadeh 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.
- 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.
- 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.
- Peraica M, Radic B, Lucic A, Pavlovic M. Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bull World Health Organ* 1999; 77(9): 754-66.
- 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.
- Corke H. Foreword-Asia's food safety and quality problems are global problems. *Qual Assur Saf Crop* 2014; 7(1): 1-2.
- Riba A, Bouras N, Mokrane S, Mathieu F, Lebrihi A, Sabau N. Aspergillus section Flavi and aflatoxins in Algerian wheat and derived products. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(10): 2772-7.
- 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].
- Mahmoudi M, Aryaei P, Ghanbari M, Nourafcan H. The determination of aflatoxin and ochratoxin of flour and wheat in Northern Iran. Proceedings of the 19th International Conference on Environment, Agriculture and Food Sciences (ICEAFS'2012); 2012 Aug. 11-12; Phuket, Thailand.
- Mosharraf L, Kadivar M, Shahedi M. Effect of hydrothermaled bran on physicochemical, rheological and microstructural characteristics of Sangak bread. *J Cereal Sci* 2009; 49(3): 398-404.
- 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.
- American Association of Cereal Chemists. Approved methods of the American association of cereal chemists. Eagan, Minnesota: AACC; 2000.
- 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>.
- 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>.
- 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.
- Zaiied 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Ewaidah EH. Ochratoxin a and aflatoxins in 1989 Saudi wheat. *Food Sci Technol* 1992; 27(6): 697-700.
- 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.
- 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.
- Shetty PH, Jespersen L. *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci Technol* 2006; 17(2): 48-55.
- 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, Certe 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 detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicol Lett* 2001; 122(2): 179-88.
30. Falah Josaghani 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-Hassani¹, Maryam Mirlohi², Mansoureh Taghizadeh¹

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