

اندازه‌گیری آفلاتوکسین B₁ در فلفل‌های قرمز و سیاه شهرستان قائم‌شهر

امیر ساسان مظفری‌نژاد^{۱*}، آرچنا گیری^۲

خلاصه

مقدمه: آفلاتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات سمی هستند که در بیشتر محصولات گیاهی مانند پسته، ذرت، ادویه‌جات، گندم و برنج یافت می‌شوند. هدف از این مطالعه، بررسی وجود آلودگی آفلاتوکسین B₁ در نمونه ادویه‌های جمع‌آوری شده در شهرستان قائم‌شهر بود.

روش: مطالعه حاضر به صورت مقطعی و به منظور بررسی وجود آلودگی آفلاتوکسین B₁ بر روی ۱۸ نمونه از ادویه‌ها شامل فلفل قرمز (۶ عدد)، فلفل سیاه (۶ عدد) و فلفل سیاه کامل (۶ عدد) که از عطاری‌های شهرستان قائم‌شهر جمع‌آوری شده بودند، انجام گردید. تحلیل نمونه‌ها به روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) رقابتی مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: آفلاتوکسین B₁ در همه نمونه‌ها مشاهده شد و میانگین غلظت آن از ۶۳/۱۶ تا ۶۲۶/۸۱ نانوگرم بر کیلوگرم متغیر بود. میانگین غلظت آفلاتوکسین B₁ در فلفل قرمز به طور معنی‌داری بالاتر از فلفل سیاه و فلفل سیاه کامل بود ($P < 0/05$). در ضمن آلودگی آفلاتوکسین B₁ در هیچ نمونه‌ای بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) گزارش نشد.

نتیجه‌گیری: با وجود این که غلظت آفلاتوکسین B₁ در نمونه‌های مورد بررسی کمتر از حد مجاز مورد تأیید اروپا می‌باشد، اما آلودگی ۱۰۰ درصد نمونه‌ها به آفلاتوکسین می‌تواند خطر جدی برای سلامت عمومی تلقی گردد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین B₁، فلفل قرمز، فلفل سیاه، ELISA

۱- دانشجوی دکتری و بیوسناسی و عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران ۲- دانشیار، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده علوم و

تکنولوژی، دانشگاه تکنولوژی جواهر لعل نهرو، حیدرآباد، هندوستان

* نویسنده مسؤل، آدرس پست الکترونیک: as.mozafarnejad@umsha.ac.ir

پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۳/۲۸

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۳/۳/۵

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۵/۲۱

مقدمه

مایکوتوکسین ها سمومی هستند که به طور طبیعی توسط برخی از گونه های آسپرژیلوس مانند آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آسپرژیلوس بومیسیسیس و آسپرژیلوس اخراستوس و آسپرژیلوس نومیوس تولید می شوند (۱). در میان ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین کشف شده، آفلاتوکسین ها شناخته شده ترین و بیشترین مایکوتوکسین تحقیق شده در سراسر جهان هستند (۲، ۳). آفلاتوکسین ها به عنوان آلودگی موجود در اقلام مواد غذایی در کشورهای در حال توسعه شناخته شده اند (۴). این مواد در کالاهای کشاورزی و غذایی به خصوص زمانی که دمای بحرانی، رطوبت نسبی و شرایط رطوبت محصول قبل یا در حین برداشت و یا به دلیل ذخیره سازی نامناسب (و همچنین حمل و نقل) طبیعی نباشد، به وجود می آیند (۵). آفلاتوکسین های اصلی به عنوان G₁، G₂، B₁ و B₂ شناخته می شوند (۷، ۸) و بسیار سمی، جهش زا، استروژن، سرکوب کننده سیستم ایمنی، ترموژنیک، تراژونیک (ناهنجاری های جنینی) و سرطان زا هستند (۸، ۷، ۵، ۲). در بین آفلاتوکسین ها، نوع B₁ قوی ترین سرطان زا در انسان است و از این رو، آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer یا IARC) و سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) آفلاتوکسین B₁ را به عنوان گروه اولیه از ترکیبات کارسینوژنیک طبقه بندی کرده اند (۹).

آفلاتوکسین ها موجب آلودگی در محصولات کشاورزی (گیاهی) مانند غلات و حبوبات، دانه های روغنی، قهوه، انگور، میوه های خشک و انواع ادویه جات می شوند (۱۱، ۱۰، ۵، ۱). فلفل قرمز، فلفل سیاه، پودر زردچوبه و زیره به طور گسترده ای در ایران مورد استفاده هستند. مصرف فلفل قرمز با ۱۶ درصد در میان ادویه های تجاری جهان و بعد از فلفل سیاه گزارش شده است (۱۲). بیشتر ادویه ها مکمل داخلی غذا هستند که از هزاران سال

پیش به منظور ارتقای کیفیت حسی مواد غذایی استفاده می شدند. ادویه ها در ایران و بسیاری از کشورها به عنوان چاشنی برای خوشمزه کردن و معطر کردن و طعم یا رنگ مواد غذایی استفاده می شوند. در هر حال، این مواد ممکن است قبل از برداشت، پس از برداشت، در حین ذخیره سازی یا حمل و نقل به آفلاتوکسین آلوده شوند. همچنین آن ها نسبت به آلودگی آفلاتوکسین ها بسته به دما، رطوبت و شرایط فراوری حساس هستند. جلیلی و همکاران گزارش کردند که اثر اشعه گاما در کاستن غلظت مایکوتوکسین ها مؤثر است (۱۳). برخی از کشورها مطالعاتی در مورد سطوح قابل پذیرش از آفلاتوکسین ها در ادویه جات و دیگر محصولات کشاورزی انجام داده اند. مظفری نژاد و همکاران تمام نمونه های فلفل سیاه در کشور هندوستان را آلوده به آفلاتوکسین B₁ گزارش کردند (با میزان ۶/۶ میکروگرم بر کیلوگرم)، اما هیچ کدام از نمونه ها آلودگی بیش از حد مجاز تعیین شده توسط اتحادیه اروپا را نداشتند (۱۴).

Ardic و همکاران در بررسی خود در کشور ترکیه به روش ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)، ۹۶ درصد نمونه های فلفل قرمز را آلوده به آفلاتوکسین B₁ گزارش کردند (۵). Iqbal و همکاران ۳۷ درصد (۵۷/۱۵۶) فلفل های قرمز پاکستانی را آلوده به سم آفلاتوکسین B₁ گزارش کردند و همچنین ۲۷ درصد از نمونه ها بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا آلوده بودند (۱۲). معمول ترین روش های تحلیلی برای تحلیل آفلاتوکسین B₁ در ادویه جات، کروماتوگرافی لایه نازک (Thin layer chromatography یا TLC)، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High performance liquid chromatography یا HPLC) و ELISA هستند. ELISA بهترین روش، مفید و قابل استفاده می باشد؛ چرا که سریع، حساس و مقرون به صرفه و استفاده از آن آسان است (۱۴، ۱۱، ۳). طبق توصیه اتحادیه اروپا بیشترین مقدار آفلاتوکسین در ادویه جات نباید بیشتر از ۵

گرفت. ۲۵ میلی لیتر متانول (۷۰ درصد) به ۵ گرم از ادویه‌ها اضافه و به مدت ۳ دقیقه با استفاده از مخلوط‌کن مخلوط گردید. عصاره توسط کاغذ صافی فیلتر و سپس با آب مقطر (۱:۱) رقیق شد. در نهایت ۵ میکرولیتر از عصاره رقیق شده برای هر چاهک در آزمون استفاده گردید (۱۶).

روش آزمون ELISA

۵۰ میکرولیتر از محلول استاندارد با نمونه‌های آماده شده برای آزمون، هر نمونه در دو تکرار به طور جداگانه در چاهک‌های پلیت میکروتیتر ریخته و پس از آن ۵۰ میکرولیتر آنزیم کونژوگه و ۵۰ میکرولیتر محلول آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین به هر چاهک افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی گرمخانه‌گذاری گردید. سپس چاهک‌ها با بافر دو بار شستشو داده شدند. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا به هر چاهک اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق گرمخانه‌گذاری شد. پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول متوقف کننده (H_2SO_4 یک نرمال) به هر چاهک اضافه و جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر در دستگاه خواننده ELISA (Thermo Company-Model: TEQIP-31, India) اندازه‌گیری گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای ارزیابی سه گروه نمونه از آزمون t و جهت ارزیابی نمونه‌های مستقل از آزمون ANOVA استفاده گردید. ۰/۰۵ < P به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

مقدار آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌های ادویه شامل فلفل قرمز، فلفل سیاه و فلفل سیاه کامل جمع‌آوری شده از شهرستان قائم‌شهر در جدول ۱ ارایه شده است. آفلاتوکسین B_1 در تمام نمونه ادویه‌های جمع‌آوری شده با محدوده

میکروگرم بر کیلوگرم برای آفلاتوکسین B_1 و B_2 ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم برای آفلاتوکسین کل باشد (۱۵). با توجه به این که در کشور ما هیچ محدوده مجازی برای میزان آفلاتوکسین B_1 در ادویه‌جات تعیین نشده است و همچنین رطوبت بالای مناطق شمالی ایران از عوامل تأثیرگذار بر رشد گونه‌های قارچی تولیدکننده آفلاتوکسین و در نتیجه افزایش احتمال آلودگی به آفلاتوکسین است و خطر بزرگی برای سلامت جامعه محسوب می‌شود، اهمیت انجام این تحقیق ضروری به نظر رسید. هدف اصلی از مطالعه حاضر، بررسی وجود آفلاتوکسین B_1 در نمونه‌های فلفل از عطاری‌های مختلف شهرستان قائم‌شهر در استان مازندران به وسیله روش ELISA بود.

روش بررسی

در خرداد سال ۱۳۹۱ در مجموع ۱۸ نمونه از فلفل‌های تجاری به صورت تصادفی از سه فروشگاه عطاری شهرستان قائم‌شهر در استان مازندران خریداری شد. ادویه‌ها شامل فلفل سیاه ۶ نمونه، فلفل قرمز ۶ نمونه و فلفل سیاه کامل ۶ نمونه بود. هر نمونه با وزن ۱۰۰ گرم در دمای ۶-۴ درجه سانتی‌گراد در کیسه‌های پلاستیکی تا هنگام تجزیه و تحلیل نگهداری گردید.

تحلیل آفلاتوکسین B_1 توسط روش ELISA

کیت ELISA ۹۶ تایی آفلاتوکسین B_1 (Art. No: R1211, R-Biopharm, Darmstadt, Germany) برای شناسایی آفلاتوکسین مورد استفاده قرار گرفت. این یک روش ایمنونواسی آنزیم رقابتی (Enzyme immunoassay) یا (EIA) است. روش‌های استخراج و آزمون در نمونه‌ها بر طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد (۱۶). آماده‌سازی نمونه‌ها و جداسازی با ستون آفلاتوکسین با توجه به دستورالعمل کتاب راهنمای کیت صورت

حبوبات (۱ میکروگرم بر کیلوگرم) مقایسه گردید که کمتر از حد استاندارد تعیین شده برای این محصولات بود، اما آفلاتوکسین M₁ در مقایسه با استاندارد ملی ایران برای شیر و محصولات لبنی (۰/۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲ و ۰/۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم) بیشتر از حد مجاز تعیین شده محاسبه شده است (۱۷). میانگین غلظت آفلاتوکسین B₁ در پودر فلفل قرمز در ایران به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه‌های فلفل سیاه کامل و پودر فلفل سیاه به دست آمد (۰/۰۵ < P)، اما این ارتباط بین نمونه‌های فلفل سیاه کامل و پودر فلفل سیاه معنی‌دار نبود (۰/۰۵ > P).

۶۳/۱۶-۶۲۶/۸۱ نانوگرم بر کیلوگرم مشاهده شد. با توجه به این که در ایران برای ادویه‌ها استاندارد وجود ندارد، بنابراین بر اساس استاندارد مجاز اتحادیه اروپا آفلاتوکسین برای ادویه‌ها ۵ میکروگرم بر کیلوگرم (۵۰۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم) می‌باشد. در نهایت نتایج بررسی و مقادیر محاسبه شده کمتر از استاندارد ذکر شده گزارش گردید. همچنین نمونه‌های فلفل بر اساس استاندارد ملی ایران برای آفلاتوکسین B₁ در مورد دیگر محصولات کشاورزی مانند دانه‌های خوراکی، آجیل‌ها، خرما، ذرت، برنج و گندم (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) و نیز غذای بچه بر پایه غلات و

جدول ۱. میزان آلودگی آفلاتوکسین B₁ در نمونه فلفل‌های شهرستان قائم‌شهر

نوع ادویه	تعداد نمونه	تعداد (۱۸ نمونه)		تجاوز از حد مجاز**
		کمینه (نانوگرم بر کیلوگرم)	بیشینه (نانوگرم بر کیلوگرم)	
پودر فلفل قرمز	۶	۲۵۵/۵۲	۶۲۶/۸۱	۰
پودر فلفل سیاه	۶	۱۰۰/۷۵	۵۳۵/۸۴	۰
پودر فلفل سیاه کامل	۶	۶۳/۱۶	۲۶۶/۷۹	۰
مجموع	۱۸	۶۳/۱۶	۶۲۶/۸۱	۰

* میانگین \pm خطای استاندارد نشان دهنده تفاوت معنی‌دار از لحاظ آماری است.

** حد مجاز اتحادیه اروپا برای آفلاتوکسین B₁ در ادویه‌جات ۵۰۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

ادویه‌ها در بیشتر کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته تولید و مصرف می‌شوند. تعدادی از مطالعات بر روی آفلاتوکسین B₁ و آفلاتوکسین کل در سایر مطالعات گزارش شده است. در جدول ۲ گزارش تعدادی از تحقیقات انجام شده در کشورهای مختلف مشاهده می‌شود. بررسی حاضر دومین گزارش از وجود آفلاتوکسین B₁ در نمونه ادویه‌های ایران بود، در حالی که چندین گزارش به وسیله بسیاری از پژوهشگران درباره فراورده‌های لبنی، برنج و پسته در ایران وجود دارد. با این حال در اولین گزارش توسط سالاری و همکاران در شهرستان سبزوار (در استان خراسان رضوی) از میان مجموع ۳۶ نمونه فلفل قرمز، میزان وجود آفلاتوکسین B₁ و اکراتوکسین A با دو روش ELISA و HPLC مقایسه گردید. وجود آفلاتوکسین B₁ و اکراتوکسین A در روش ELISA به ترتیب ۲۸ (۷/۸ درصد) و ۸ (۲۲/۲ درصد) و در محدوده ۱۵/۰-۱/۱ درصد) و ۲/۳۵-۰/۵۹ میکروگرم بر کیلوگرم به دست آمد. وجود آفلاتوکسین B₁ و اکراتوکسین A در روش HPLC به ترتیب در ۲۵ (۶۹/۴ درصد) و ۶ (۱۶/۷ درصد) در محدوده ۱۴/۵-۰/۴ و ۲/۱۷-۰/۷۴ میکروگرم بر کیلوگرم شناسایی شد (۳۰).

استان خراسان رضوی) از میان مجموع ۳۶ نمونه فلفل قرمز، میزان وجود آفلاتوکسین B₁ و اکراتوکسین A با دو روش ELISA و HPLC مقایسه گردید. وجود آفلاتوکسین B₁ و اکراتوکسین A در روش ELISA به ترتیب ۲۸ (۷/۸ درصد) و ۸ (۲۲/۲ درصد) و در محدوده ۱۵/۰-۱/۱ درصد) و ۲/۳۵-۰/۵۹ میکروگرم بر کیلوگرم به دست آمد. وجود آفلاتوکسین B₁ و اکراتوکسین A در روش HPLC به ترتیب در ۲۵ (۶۹/۴ درصد) و ۶ (۱۶/۷ درصد) در محدوده ۱۴/۵-۰/۴ و ۲/۱۷-۰/۷۴ میکروگرم بر کیلوگرم شناسایی شد (۳۰).

جدول ۲. بررسی میزان آلودگی آفلاتوکسین در ادویه‌های کشورهای مختلف (۱۸-۲۹)

کشور	محصول	تعداد نمونه	تعداد نمونه مثبت (درصد)	روش	مایکوتوکسین	بازه (میکروگرم بر کیلوگرم)
Ethiopia	Ground red pepper	۶۰	۸ (۱۳)	TLC	AFs	۲۵۰-۵۲۵
India	Chilli	۱۸۲	۱۰۷ (۵۹)	ELISA	AFB1	< ۱۰-۹۶۹
Turkey	Red pepper	۲۶	۱۷ (۶۵)	HPLC	AFB1	۰/۶-۵۶
Qatar	Mixed spices powder	۶	۵ (۸۴)	HPLC	AFs	۰/۱۶-۵/۱۲
Turkey	Ground black pepper	۱۵	۴ (۲۷)	HPLC	AFs	۰/۳-۲/۳
Turkey	Red pepper	۵۰	۳۵ (۷۰)	ELISA	AFB1	۱/۴۸-۷۰/۰۵
Italy	Black pepper	۱۱	۰ (۰)	ELISA	AFB1	ND
Bahrain	Black pepper powder	۴	۴ (۱۰۰)	HPLC	AFB1	۰/۸-۱/۳
	Red chilli powder	۶	۶ (۱۰۰)		AFB1	۲۳/۴-۲۷/۶
Brazil	Paprika	۷۰	۴۳ (۶۲)	HPLC	AFB1	۰/۵-۷/۳
Pakistan	Whole chilli	۲۲	۱۶ (۷۳)	HPLC	AFB1	< ۰/۰۵-۹۶/۳
	Chilli Powder	۲۲	۱۹ (۸۶)			< ۰/۰۵-۸۹/۶
Turkey	Black pepper powder	۲۳	۷ (۳۰/۴)	HPLC	AFB1	۰/۱۳-۰/۴۲
Pakistan	Chilli powder	۳۴	۱۹ (۵۶)	HPLC	AFs	LOD-۱۰۴/۴

TLC: Thin layer chromatography; HPLC: High performance liquid chromatography

تحقیق Shundo و همکاران بر روی نمونه فلفل قرمز در برزیل نشان داد که ۸۲/۹ درصد به آفلاتوکسین کل آلوده بود و همچنین آفلاتوکسین B₁ را در ۶۱/۴ درصد در محدوده ۰/۵-۷/۳ میکروگرم بر کیلوگرم با میانگین غلظت ۳/۴ میکروگرم بر کیلوگرم عنوان کردند (۲۶). مطالعه Paterson بر روی ۱۳ نمونه فلفل قرمز در کشور پاکستان نشان داد که ۸ نمونه (۷۳ درصد) دارای آفلاتوکسین کل بالای حد مجاز ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم پذیرفته شده توسط اتحادیه اروپا بودند (۳۴). Zinedine و همکاران در مراکش ۱۴ نمونه فلفل قرمز را برای وجود آفلاتوکسین B₁ مورد بررسی قرار دادند که همه نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) در محدوده ۲/۸۸-۵/۴۰ میکروگرم بر کیلوگرم آلوده بودند (۳۵).

با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر و بر اساس استاندارد اتحادیه اروپا که حد مجاز آفلاتوکسین B₁

در پژوهش Shamsuddin و همکاران در کشور پاکستان از ۱۷۶ نمونه فلفل قرمز، ۶۶ درصد از نمونه‌ها به آفلاتوکسین آلوده بودند (۳۱) و نیز در بررسی مشابه دیگری توسط جلیلی و Jinap در کشور مالزی از ۸۰ نمونه فلفل قرمز خشک شده، ۵۲ نمونه (۶۵ درصد) به آفلاتوکسین B₁ آلوده بودند (۳۲)، در صورتی که در مطالعه حاضر درصد آلودگی ۱۰۰ درصد گزارش گردید. مطالعه دیگری به روش ELISA توسط Reddy و همکاران در کشور مالزی انجام شد که بر طبق آن از ۸ نمونه فلفل قرمز مورد آزمایش، تمام نمونه‌ها (۱۰۰ درصد) آلوده به آفلاتوکسین B₁ بودند (۱۹). در تحقیق مشابه انجام شده با همین روش توسط Mutlu و Kursun در کشور ترکیه، از ۳۴ نمونه فلفل قرمز مورد مطالعه ۱۰۰ درصد نمونه‌ها به آفلاتوکسین کل آلوده بودند (۳۳) که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد.

ادویه‌ها به وسیله مقامات بهداشت عمومی ایران به دقت کنترل شود. همچنین استفاده از یک سیستم کنترل مواد غذایی مانند سیستم HACCP (Hazard analysis and critical control points) در صنایع غذایی به عنوان یک ابزار کارآمد محدود کردن آلودگی میکوتوکسین به‌ویژه برای آفلاتوکسین در غذا پیشنهاد می‌شود.

در ادویه‌جات را ۵ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین نموده است، هیچ کدام از نمونه‌های مورد بررسی بیش از حد مجاز نبودند؛ اما وجود آفلاتوکسین B₁ در ادویه‌ها در ایران می‌تواند نگرانی اصلی برای سلامتی باشد. از این‌رو شرایط رشد، برداشت محصول و روش‌های فراوری، شرایط ذخیره‌سازی و عملیات پس از برداشت باید به منظور جلوگیری از خطرات آفلاتوکسین و با توجه به آلوده بودن

References

1. Kamkar A, Yazdankhah S, Nafchi AM, Nejad AS. Aflatoxin M₁ in raw cow and buffalo milk in Shush city of Iran. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2014; 7(1): 21-4.
2. O'Riordan MJ, Wilkinson MG. A survey of the incidence and level of aflatoxin contamination in a range of imported spice preparations on the Irish retail market. *Food Chem* 2008; 107(4): 1429-35.
3. Tavakoli HR, Riazipour M, Kamkar A, Rafati Shaldehi H, Mozaffari Nejad AS. Occurrence of aflatoxin M₁ in cheese samples from Tehran, Iran. *Food Control* 2012; 23(1): 293-5.
4. Kamkar A, Fallah AA, Mozaffari Nejad A.S. The review of aflatoxin M₂ Concentration in milk and dairy product produced in Iran. *Toxin Rev* 2014; 33(4): 160-68.
5. Ardic M, Karakaya Y, Atasever M, Durmaz H. Determination of aflatoxin B₁ levels in deep-red ground pepper (isot) using immunoaffinity column combined with ELISA. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(5): 1596-9.
6. Cheraghali AM, Yazdanpanah H, Doraki N, Abouhossain G, Hassibi M, Ali-abadi S, et al. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. *Food Chem Toxicol* 2007; 45(5): 812-6.
7. Pournourmohammadi Sh, Ansari M, Nezakati Alfata L, Kazemipour M, Hasibi M. Determination of Aflatoxin M₁ in Pasteurized Milk Consumed in Kerman Province. *J Kerman Univ Med Sci* 2009; 16(3): 271-80.
8. Jaynes WF, Zartman RE, Hudnall WH. Aflatoxin B₁ adsorption by clays from water and corn meal. *Applied Clay Science* 2007; 36(1-3): 197-205.
9. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [Online]. [cited 21 Aug 1997]; Available from: URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol156/volume56.pdf>
10. Tavakoli HR, Kamkar A, Riazipour M, Mozaffari Nejad S, Rafati Shaldehi H. Assessment of Aflatoxin M₁ Levels by Enzyme-linked Immunosorbent Assay in Yoghurt Consumed in Tehran, Iran. *Asian J Chem* 2013; 25(5): 2836-8.
11. Mo'ricz AM, Fatér Z, Otta KH, Tyihak E. Overpressured layer chromatographic determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ in red paprika. *Microchemical Journal* 2007; 85(1): 140-4.

12. Iqbal SZ, Bhatti IA, Asi MR, Bhatti HN, Sheikh MA. Aflatoxin contamination in chillies from Punjab Pakistan with reference to climate change. *Int J Agr Biol* 2011; 13: 261-5.
13. Jalili M, Jinap S, Noranizan A. Effect of gamma radiation on reduction of mycotoxins in black pepper. *Food Control* 2010; 21(10): 1388-93.
14. Mozaffari Nejad AS, Bayat M, Ahmadi AA. Investigation of Aflatoxin B₁ in Spices Marketed in Hyderabad, India by ELISA Method. *Journal of Pure and Applied Microbiology* 2013; 7(4): 3219-23.
15. Anonymous. Commission Regulation (EC) No 472/2002. *Official Journal of European Communities* 2002; 45: 42-4.
16. R-Biopharm GmbH. Enzyme immunoassay for the quantitative analysis of aflatoxin B₁. Art. No.: R1211. R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany 2010.
17. Khoshpey B, Farhud D, Zaini F. Aflatoxins in Iran: nature, hazards and carcinogenicity. *Iran J Public Health* 2011; 40(4): 1-30.
18. Fufa H, Urga K. Screening of aflatoxins in Shiro and ground red pepper in Addis Ababa. *Ethiop Med J* 1996; 34(4): 243-9.
19. Reddy KR, Farhana NI, Salleh B. Occurrence of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B₁ in Malaysian foods used for human consumption. *J Food Sci* 2011; 76(4): T99-104.
20. Omurtag GZ, Atak G, Keskin G, Ersoy O. HPLC assay for aflatoxins in dried red peppers and feedstuffs in Turkey. *Acta Pharmaceutica Turcica* 2002; 44: 11-22.
21. 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.
22. Bircan C. The determination of aflatoxins in spices by immunoaffinity column extraction using HPLC. *International Journal of Food Science & Technology* 2005; 40(9): 929-34.
23. Kanbur M, Liman BC, Eraslan G, Altinordulu S. Quantitative analysis of aflatoxin B₁ by enzyme immuno assay (EIA) in red pepper marketed in Kayseri. *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* 2006; 3(1): 21-4.
24. Romagnoli B, Menna V, Gruppioni N, Bergamini C. Aflatoxins in spices, aromatic herbs, herb-teas and medicinal plants marketed in Italy. *Food Control* 2007; 18(6): 697-701.
25. Musaigera AO, Al-Jedah JH, D'souza R. Occurrence of contaminants in foods commonly consumed in Bahrain. *Food Control* 2008; 19(9): 854-61.
26. Shundo L, de Almeida AP, Alaburda J, Lamardo LCA, Navas SA, Ruvieri V, et al. Aflatoxins and ochratoxin A in Brazilian paprika. *Food Control* 2009; 20(12): 1099-102.
27. Iqbal SZ, Paterson RR, Bhatti IA, Asi MR, Sheikh MA, Bhatti HN. Aflatoxin B₁ in chillies from the Punjab region, Pakistan. *Mycotoxin Res* 2010; 26(3): 205-9.
28. Ozbey F, Kabak B. Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices. *Food Control* 2012; 28(2): 354-61.
29. Iqbala SZ, Rafique Asib M, Zuber M, Akhtar J, Saif MJ. Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in commercial chilli and chilli sauce samples. *Food Control* 2013; 30(2): 621-5.
30. Salari R, Habibi Najafi MB, Boroushaki MT, Mortazavi SA, Fathi Najafi M. A comparison

- between ELISA and HPLC for aflatoxin B₁ and ochratoxin A detection in Iranian red pepper. *Journal of Food Research* 2012; 21(4): 483-94. [In Persian].
31. Shamsuddin ZA, Khan MA, Khan BA, Ahmad MA, Ahmed A. Contamination of red chilli with aflatoxin b1 in Pakistan. *Mycotoxin Res* 1995; 11(1): 21-4.
32. Jalili M, Jinap S. Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in commercial dried chili. *Food Control* 2012; 24(1-2): 160-4.
33. Kursun O, Mutlu G. Aflatoxin in Spices Marketed in the West Meditterrenian Region of Turkey. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 2010; 9(23): 2979-81.
34. Paterson RRM. Aflatoxins contamination in chilli samples from Pakistan. *Food Control* 2007; 18(7): 817-20.
35. Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C, Debegnach F, Angelinib S, et al. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control* 2006; 17(11): 868-74.

The Measurement of Aflatoxin B₁ in Chilli and Black Peppers of Qaemshahr, Iran

Amir Sasan Mozaffarinejad, M.Sc.^{1*}, Archana Giri, Ph.D.²

1. Ph.D. Student, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran

2. Associate Professor, Center for Biotechnology, School of Science and Technology, Jawaharlal Nehru Technological University, Hyderabad, Andhra Pradesh, India

* Corresponding author; e-mail: as.mozaffarinejad@umsha.ac.ir

(Received: 12 August 2013 Accepted: 18 June 2014)

Abstract

Background & Aims: Aflatoxins are a group of toxic compounds found in most plant products such as pistachio, corn, spices, wheat, and rice. This study was carried out to detect the presence of aflatoxin B₁ (AFB₁) in samples of spices collected from Qaemshahr in Mazandaran province, Iran.

Methods: This was a cross-sectional study on the presence of AFB₁ in 18 samples of spices including chilli (red) powder (n = 6), black pepper powder (n = 6), and whole black pepper (n = 6) collected from Qaemshahr. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to analyze the samples.

Results: Aflatoxin B₁ was found in all samples, and the concentration of aflatoxin ranged from 63.16 to 626.81 ng/kg. The mean AFB₁ concentration in chilli (red) powder was significantly higher (P < 0.05) than whole and powdered black pepper. However, none of the samples exceeded the maximum prescribed limit of 5 µg/kg recommended by the European Union regulations for aflatoxin B₁.

Conclusion: Although the concentration of AFB₁ in the study samples was less than the maximum limit approved by the EU, the 100% Aflatoxin contamination of the samples could be a potential hazard for public health.

Keywords: Aflatoxin B₁, Chilli pepper, Black pepper, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)