● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ودوم، شمارهٔ ۲، ص ۱۹۳-۱۸۵، ۱۳۹۴

مقالهٔ پژوهشی

اندازه‌گیری آفلاتوکسین B_1 در فلفل‌های قرمز و سیاه شهرستان قائم‌شهر

امیر ساسان مظفری‌نژاد[1*]، آرچنا گیری[2]

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 B_1 در نمونه ادویه‌های جمع‌آوری شده در شهرستان قائم‌شهر بود.

روش: مطالعه حاضر به صورت مقطعی و به منظور بررسی وجود آلودگی آفلاتوکسین B_1 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 B_1 در همه نمونه‌ها مشاهده شد و میانگین غلظت آن از ۶۳/۱۶ تا ۶۲۶/۸۱ نانوگرم بر کیلوگرم متغیر بود. میانگین غلظت آفلاتوکسین B_1 در فلفل قرمز به طور معنی‌داری بالاتر از فلفل سیاه و فلفل سیاه کامل بود ($P < ۰/۰۵$). در ضمن آلودگی آفلاتوکسین B_1 در هیچ نمونه‌ای بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) گزارش نشد.

نتیجه‌گیری: با وجود این‌که غلظت آفلاتوکسین B_1 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 B_1، فلفل قرمز، فلفل سیاه، ELISA

۱- دانشجوی دکتری ویروس‌شناسی 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 مسؤول، آدرس پست الکترونیک:** as.mozafarinejad@umsha.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۵/۲۱ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۹۳/۳/۵ **پذیرش مقاله:** ۱۳۹۳/۳/۲۸

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها سمومی هستند که به طور طبیعی توسط برخی از گونه‌های آسپرژیلوس مانند آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس، آسپرژیلوس بومبی سیس و آسپرژیلوس اخراسئوس و آسپرژیلوس نومیوس تولید می‌شوند (۱). در میان ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین کشف شده، آفلاتوکسین‌ها شناخته شده‌ترین و بیشترین مایکوتوکسین تحقیق شده در سراسر جهان هستند (۳، ۲). آفلاتوکسین‌ها به عنوان آلودگی موجود در اقلام مواد غذایی در کشورهای در حال توسعه شناخته شده‌اند (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 ذخیره‌سازی نامناسب (و همچنین حمل و نقل) طبیعی نباشد، به وجود می‌آیند (۶، ۵). آفلاتوکسین‌های اصلی به عنوان G_2، G_1، B_2 و B_1 شناخته می‌شوند (۷، ۱) و بسیار سمی، جهش‌زا، استروژن، سرکوب کننده سیستم ایمنی، ترموژنیک، تراتوژنیک (ناهنجاری‌های جنینی) و سرطان‌زا هستند (۸، ۷، ۵، ۲). در بین آفلاتوکسین‌ها، نوع B_1 قوی‌ترین سرطان‌زا در انسان است و از این‌رو، آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer یا IARC) و سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) آفلاتوکسین B_1 را به عنوان گروه اولیه از ترکیبات کارسینوژنیک طبقه‌بندی کرده‌اند (۹).

آفلاتوکسین‌ها موجب آلودگی در محصولات کشاورزی (گیاهی) مانند غلات و حبوبات، دانه‌های روغنی، قهوه، انگور، میوه‌های خشک و انواع ادویه‌جات می‌شوند (۱۱، ۱۰، ۵، ۱). فلفل قرمز، فلفل سیاه، پودر زردچوبه و زیره به طور گسترده‌ای در ایران مورد استفاده هستند. مصرف فلفل قرمز با ۱۶ درصد در میان ادویه‌های تجاری جهان و بعد از فلفل سیاه گزارش شده است (۱۲). بیشتر ادویه‌ها مکمل داخلی غذا هستند که از هزاران سال پیش به منظور ارتقای کیفیت حسی مواد غذایی استفاده می‌شدند. ادویه‌ها در ایران و بسیاری از کشورها به عنوان چاشنی برای خوشمزه کردن و معطر کردن و طعم یا رنگ مواد غذایی استفاده می‌شوند. در هر حال، این مواد ممکن است قبل از برداشت، پس از برداشت، در حین ذخیره‌سازی یا حمل و نقل به آفلاتوکسین آلوده شوند. همچنین آن‌ها نسبت به آلودگی آفلاتوکسین‌ها بسته به دما، رطوبت و شرایط فراوری حساس هستند. جلیلی و همکاران گزارش کردند که اثر اشعه گاما در کاستن غلظت مایکوتوکسین‌ها مؤثر است (۱۳). برخی از کشورها مطالعاتی در مورد سطوح قابل پذیرش از آفلاتوکسین‌ها در ادویه‌جات و دیگر محصولات کشاورزی انجام داده‌اند. مظفری‌نژاد و همکاران تمام نمونه‌های فلفل سیاه در کشور هندوستان را آلوده به آفلاتوکسین B_1 گزارش کردند (با میزان ۶/۶ میکروگرم بر کیلوگرم)، اما هیچ کدام از نمونه‌ها 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 نمونه‌های فلفل قرمز را آلوده به آفلاتوکسین B_1 گزارش کردند (۵). Iqbal و همکاران ۳۷ درصد (۵۷/۱۵۶) فلفل‌های قرمز پاکستانی را آلوده به سم آفلاتوکسین B_1 گزارش کردند و همچنین ۲۷ درصد از نمونه‌ها بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا آلوده بودند (۱۲). معمول‌ترین روش‌های تحلیلی برای تحلیل آفلاتوکسین B_1 در ادویه‌جات، 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 می‌باشد؛ 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 ادویه‌جات نباید بیشتر از ۵

میکروگرم بر کیلوگرم برای آفلاتوکسین B_1 و ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم برای آفلاتوکسین کل باشد (۱۵). با توجه به این‌که 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 تولید کننده 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 ایمونواسی آنزیم رقابتی (Enzyme immunometric assay 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 گرفت. ۲۵ میلی‌لیتر 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 (H2SO4 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 B1 در تمام نمونه ادویه‌های جمع‌آوری شده با محدوده

۶۳/۱۶-۶۲۶/۸۱ نانوگرم بر کیلوگرم مشاهده شد. با توجه به این‌که در ایران برای ادویه‌ها استانداردی 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 B_1 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 حبوبات (۱ میکروگرم بر کیلوگرم) مقایسه گردید که کمتر از حد استاندارد تعیین شده برای این محصولات بود، اما آفلاتوکسین M_1 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 B_1 در پودر فلفل قرمز در ایران به طور معنی‌داری بالاتر از نمونه‌های فلفل سیاه کامل و پودر فلفل سیاه به دست آمد ($P < ۰/۰۵$)، اما این ارتباط بین نمونه‌های فلفل سیاه کامل و پودر فلفل سیاه معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$).

جدول ۱. *میزان آلودگی آفلاتوکسین B_1 در نمونه فلفل‌های شهرستان قائم‌شهر*

نوع ادویه	تعداد نمونه (۱۸ نمونه)	کمینه (نانوگرم بر کیلوگرم)	بیشینه (نانوگرم بر کیلوگرم)	میانگین ± خطای استاندارد* (نانوگرم بر کیلوگرم)	تجاوز از حد مجاز**
پودر فلفل قرمز	۶	۲۵۵/۵۲	۶۲۶/۸۱	۴۱۴/۲۷ ± ۴۹/۰۷	۰
پودر فلفل سیاه	۶	۱۰۰/۷۵	۵۳۵/۸۴	۲۴۳/۳۴ ± ۶۷/۷۶	۰
پودر فلفل سیاه کامل	۶	۶۳/۱۶	۲۶۶/۷۹	۱۸۷/۵۷ ± ۳۲/۷۹	۰
مجموع	۱۸	۶۳/۱۶	۶۲۶/۸۱	۲۸۱/۷۳ ± ۳۶/۵۹	۰

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

**حد مجاز اتحادیه اروپا برای آفلاتوکسین B_1 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 B_1 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 B_1 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 B_1 و اکراتوکسین A با دو روش ELISA و HPLC مقایسه گردید. وجود آفلاتوکسین B_1 و اکراتوکسین A در روش ELISA به ترتیب ۲۸ (۷۷/۸ درصد) و ۸ نمونه (۲۲/۲ درصد) و در محدوده ۱۵/۰-۱/۱ و ۲/۳۵-۰/۵۹ میکروگرم بر کیلوگرم به دست آمد. وجود آفلاتوکسین B_1 و اکراتوکسین A در روش HPLC به ترتیب در ۲۵ (۶۹/۴ درصد) و ۶ نمونه (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 (۲۹-۱۸)*

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

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 B_1 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 B_1 بودند (۱۹). در تحقیق مشابه انجام شده با همین روش توسط Kursun و Mutlu 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.

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 B_1 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 B_1 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 B_1

در ادویه‌جات را ۵ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین نموده است، هیچ کدام از نمونه‌های مورد بررسی بیش از حد مجاز نبودند؛ اما وجود آفلاتوکسین B_1 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 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 کارامد محدود کردن آلودگی مایکوتوکسین به‌ویژه برای آفلاتوکسین در غذا پیشنهاد می‌شود.

References

1. Kamkar A, Yazdankhah S, Nafchi AM, Nejad AS. Aflatoxin M_1 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 M_1 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 B(1) 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 M_1 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 B_1 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/vol56/volume56.pdf
10. Tavakoli HR, Kamkar A, Riazipour M, Mozaffari Nejad S, Rafati Shaldehi H. Assessment of Aflatoxin M_1 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, Tyiha'k E. Overpressured layer chromatographic determination of aflatoxin B_1, B_2, G_1 and G_2 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 B_1 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 B_1. Art. No.: R1211. R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany2010.

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 B_1 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 PharmaceuticaTurcica* 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 B_1 by enyzme 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-Jedahb JH, D'souzaa 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 B_1 in chilies 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, Zubera M, Akhtarb 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 B_1 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 Mediterrenian 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 B_1 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.mozafarinejad@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 B_1 (AFB_1) in samples of spices collected from Qaemshahr in Mazandaran province, Iran.

Methods: This was a cross-sectional study on the presence of AFB_1 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 B_1 was found in all samples, and the concentration of aflatoxin ranged from 63.16 to 626.81 ng/kg. The mean AFB_1 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 B_1.

Conclusion: Although the concentration of AFB_1 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 B_1, Chilli pepper, Black pepper, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(2): 185-193