مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۰ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۷ صفحات ۱۱۸- ۱۱۱

بررسی آلودگی برنج های مصرفی به قارچ های مولد مایکوتوکسین ها در استان آذربایجان شرقی

دکتر عبدالحسن کاظمی: دانشیار قارچ شناسی پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی و مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: kazemi1338@Gmail.com

دکتر جواد مهتدی نیا: دانشیار تغذیه، مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکتر رضا مهدوی: دانشیار تغذیه، مرکز تحقیقات علوم تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
سید جمال قائم مقامی: مربی تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
نجیبه اکبری: مربی قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
اصغر صالحپور: مربی قارچ شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
مرتضی واحد جباری: کارشناس تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
فاطمه رضائیان: کارشناس تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
فرناز ضامن میلانی: کارشناس تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
فرساد نعیمی: کارشناس تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
سیده فائزه میریوسفی عطا: کارشناس تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۶/۳/۲۰ پذیرش: ۸۶/۹/۷

چکیده

زمینه و اهداف: طیف نسبتا وسیعی از گونه های قارچ کپکی مانند آسپرژیلوس ها، پنیسیلیوم ها، فوزاریوم ها و... قدرت تولید مقادیر زیادی از آفلاتوکسین ها، فومونیزین ها، زرالنون ها، اوکراتوکسین ها و... بعنوان مایکوتوکسین های دارای خاصیت سرطان زایی، نفروتوکسیسیتی، استروژنیسم و... را دارا می باشند که مصرف اغذیه آلوده به این مایکوتوکسین ها بعنوان یکی از عوامل بروز سرطان های ازوفاژال، کبد، کلیه و... در انسان و حیوان ارزیابی شده است. با توجه به میزان بالای مصرف برنج و مشتقات آن در جیره غذایی جامعه، بررسی حاضر به منظور تشخیص آلودگی برنج های مصرفی در آذربایجان شرقی به قارچ های مولد مایکوتوکسین ها انجام پذیرفت.

روش بررسی: در این بررسی با کشت از یکصد و پنجاه نمونه برنج جمع آوری شده از سطح استان در محیط های کشت اختصاصی و سپس مطالعه مورفولوژیک کلنی های رشد کرده در محیط کشت ها، آزمایش میکروسکوپی لام تهیه شده از کلنی ها و همچنین تهیه اسلاید کالچر در صورت لزوم، آلودگی نمونه های برنج به گونه های مختلف قارچ های مولد مایکوتوکسین های متعدد مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته ها : در این بررسی آلودگی نمونه های مورد مطالعه از برنج های مصرفی استان به انواع قارچ ها مانند *پنیسیلیوم ها، آسپرژیلوس ها، فوزاریوم ها* و... به میزان ۱۳۷ نمونه از ۱۵۰ نمونه مورد بررسی (۹۰٪) که مولد مایکوتوکسین های متعدد می باشند؛ مشخص گردید.

نتیجه گیری: این مطالعه با توجه به نتایج حاصله و مباحث مطروحه در آن، لزوم توجه به رفع الودگی از مواد غذایی منجمله برنج ، وضع مقررات بهداشتی و نظارت بر اجرای آنها، اندازه گیری کمّی مقادیر مایکوتوکسین های حاصل از قارچهای مولد مایکوتوکسین ها در مواد غذایی برای تعیین حد مجاز این گروه از سموم در مواد غذایی، و توجه متخصصین بهداشت عمومی و تغذیه به موضوع را مطرح می نماید.

کلید واژه ها: برنج، قارچ، مایکوتوکسین ها

مقدمه

مایکوتوکسین ها یا سموم قارچی فراوردهای متابولیکی اولیه و یا ثانویه قارچها می باشند (۶-۱) و مایکوتوکسین هایی مانند انواع زرالنون (Zearalenone)، آفلاتوکسین (Aflatoxin)، فومونیزین (Fumonisin)، اوکراتوکسین (Ochratoxin) مایکوتوکسین هایی سرطان زا می باشند که مصرف اغذیه آلوده به این مایکوتوکسین ها با وقوع موارد متعددی از سرطان ازوفاژال،

کبد، کلیه و عوارض سوء دیگر در انسان و حیوان همراه بوده است (۱۱-۷). طیف وسیعی از انواع قارچ های کپکی *مانند آسپرژیلوس ها، پنیسیلیوم ها، فوزاریوم ها* و... قادر به تولید مقادیر زیادی از مایکوتوکسین های خطرناک می باشند (۱۵- ۱۱ ،٦- ۵). رشد سریع قارچهای مولد این مایکوتوکسین ها در غلات انبار شده بویژه برنج و تولید فراوان مایکوتوکسین هایی مانند آفلاتوکسین ها، فومونیزین ها، زرالنون ها، اوکراتوکسین ها و.... در شرایط انباری نشان داده شده است (۱۸-۱۵ و ۱۲ و ۱۱). این مایکوتوکسین ها سموم سرطان زا می باشند که مثلا" فومونیسین ها بوسیله انواع *فوزاریوم ها*مانند *F. moniliform* ،*F. proliferatum* ، *F. nygamia* ،*F. napiforme* ،*F. dlamini* ،*F. anthophilum* تولید می گردند (۱۹ و ١٤-۱۱ و ۵) ولی فومونیزین B1 (FB1) از محیط رشد مایع قارچ کپکی سیاه موسوم به *Alternaria alternata* نیز جدا شده است (۱۵). فوزاریوم ها، پاتوژن های عمده غلات بوده و غلات آلوده به این قارچ بویژه برنج و ذرت، حاوی مقادیر بالایی از فومونیزین می باشند (۱۹- ۱۷ و ۱۳- ۱۰). مایکو توکسین ها براساس تمایل به بافتهای ویژه‌ای در پیکر انسان و حیوان به توکسین هایی مانند هپاتوتوکسین‌ها، نوروتوکسین‌ها، کارسینوژن‌ها، تراتوژن‌ها، ترمورژنها، گاستروانتستینتال توکسین‌ها، جنیتوتوکسین‌ها، درماتوتوکسین‌ها، کاردیوتوکسین‌ها، و ... تقسیم می‌شوند (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۴). ارگوتیسم یکی از قدیمی‌ترین و شناخته شده‌ترین بیماریهای ناشی از مایکوتوکسین ها است که موجب مرگ هزاران نفر در اعصار مختلف در مناطق جغرافیایی متفاوت شده است. آلوکیای سمی گوارشی (Alimentary toxic aleukie, ATA) بویژه در روسیه و کشورهای اروپای شرقی ناشی از آلودگی غلات به قارچهای جنس فوزاریوم میباشد و بری بری قلبی حاد از بیماریهایی است که به علت سم برنج زرد و سترووو یریدین در آسیا دیده می‌شود (١٦). سندرم ری به عنوان یکی از عوامل مرگ و میر کودکان بویژه در جنوب شرقی آسیا، ناشی از آفلاتوکسین B_1 بنظر می‌رسد و ارتباط مستقیمی مابین بروز سرطان کبد و ازوفاژال در انسان و ورود آفلاتوکسین‌ها و فومونیزین از طریق جیره غذایی به بدن در نواحی مختلفی مانند ناحیه ترانزسکی (Transkei) آفریقای جنوبی، چین، هندوستان و جنوب شرقی آسیا متحمل است (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۴). نفروپاتی بومی بالکان بعنوان یک بیماری بومی در کشورهای حوزه بالکان به سمیت اوکراتوکسین A و سیترینین نسبت داده می شود (۲۵). نقش فومونیزین در بروز علایم بالینی لکوانسفالومالشیا (leucoencephalomalacia) همراه با ضایعات نکروزه در بافت مغزی، تورم ریوی، هپاتوسلولار نکروزه و هپاتوکارسینوما در حیوانات نشان داده شده است (۲۱ و ١٦ و ۸ و۷ و ۵) و در مناطق دارای شیوع بالای سرطان ازوفاژال در چین نیز آلودگی ۴۸٪ غلات در مقایسه با آلودگی ۲۵٪ غلات در مناطق دارای شیوع پایین سرطان ازوفاژال از نظر علمی معنی دار می باشد (۲۴ و ۲۳).

آلودگی مواد غذایی به این سموم از آفریقا، آمریکا، کانادا، برزیل، اکوادور، استرالیا، تایوان، نپال، هندوستان و اروپا، ایران و... گزارش شده است (۲۸-۲۱ و ۱۹-۱۷ و ۱۰ و ۸). موارد آلودگی مواد غذایی با فومونیزین به مراتب بیش از موارد ناشی ازآلودگی با آفلاتوکسین ها می باشد (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۴).

سمیت شدید بعضی از مایکوتوکسین ها از یک طرف، طیف وسیع اثرات سوء آنها بر ارگان های مختلف پیکر انسان و حیوان از طرف دیگر و آلودگی غلات و بویژه برنج به انواع فومونیسین و زرالنون (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۴) در کشور ما مسئله ای بغایت مهم از نظر بهداشت مواد غذایی و سلامت عمومی جامعه است که متاسفانه با عدم توجه نه فقط مسئولان بهداشتی بلکه حتی با عدم عنایت محافل علمی و دانشگاهی مواجه است بنحویکه میکوتوکسیکوز اولیه و ثانویه ناشی از مصرف برنج آلوده و مشتقات غذایی گوناگون آن به سموم خطرناکی مانند فومونیزین ها کشور ما، بحثی مهجور می می باشد که علیرغم وجود و شیوع آن، اهتمام شایسته ای در باره آن انجام نمی گیرد و دراین مورد در سال های اخیر به دلیل باقی ماندن طولانی برنج های داخلی در انبارها (که عموما دارای شرایط استاندارد لازم نیز نیستند) به علت وضع نابسامان بازار برنج در کشور، بر وخامت اوضاع افزوده شده است. سمومی مانند فومونیسین‌ها تقریباً از تمامی نمونه‌های غذایی انسانی و حیوانی تهیه شده از برنج و ذرت و بعضی دیگر از غلات در مقادیر کمتر از یک قسمت در میلیون جداسازی شده‌اند (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۴). و گستردگی جهانی فومونیسین‌ها دربرنج و غلات و سمیت آنها برای انسان و حیوانات، ضرورت تعیین مقدار این ترکیبات را در غلات اجتناب ناپذیر ساخته است(۳۳-۲۹). در کشور ما، شیوه های مرسوم زراعت، نحوه برداشت، انبارداری، حمل و نقل و عمل آوری محصولات کشاورزی، عادات غذایی و....در کنار شرایط اقلیمی موجبات آلودگی سهل و وسیع غلات و فراورده های حاصل از آن به مایکوتوکسین ها و منجمله فومونیزین را فراهم آورده و تغذیه انسان و حیوان از این مواد منجر به بروز عوارض سوء این مایکوتوکسین را فراهم می آورد (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۸ و ۴). پژوهشها در مناطق مختلف کشور در مورد آلودگی انواع مواد غذایی به انواع متفاوت مایکوتوکسین ها نیز مهر تاییدی بر مطالب فوق است (۳۳ و ۳۲ و ۲۸-۲۵ و ۸) و با توجه به موارد فوق و با عنایت به میزان بالای مصرف برنج و مشتقات آن در جیره غذایی جامعه و همچنین مصرف احتمالی ضایعات آن در دامداریها برای تغذیه دام ها و احیانا در مرغداریها، بررسی حاضر به منظور تشخیص آلودگی برنج های مصرفی در آذربایجانشرقی به قارچ های مولد مایکوتوکسین ها انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

۱۵۰ نمونه دویست و پنجاه گرمی از برنج های انباری از انبارهای مختلف نگهداری برنج به صورت تصادفی (در سه نوبت آخر اردیبهشت، مرداد و آبان ماه و در هر نوبت ۵۰ نمونه) در

سطح استان (شهر های مختلف) متناسب با ظرفیت انبارها و سیلوها با توجه به ظرفیت های اسمی سالانه هر انبار یا سیلو از قسمت های مختلف انبارها و سیلوها و همچنین از عمده فروشی ها و خرده فروشی ها جمع آوری گردید. نمونه برداری بصورت تصادفی و از قسمت میانی محموله های برنج بعمل آمد. برای جمع آوری نمونه ها، متعاقب ثبت اطلاعات مربوط به هر نمونه، از پاکت های از قبل استریل شده استفاده شده و برای جلوگیری از اثر عوامل مداخله گر محیطی، همه نمونه ها سریعا" در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند و برای شروع آزمایشات، تعیین درصد رطوبت نمونه ها بلافاصله بعد از جمع آوری نمونه ها انجام شد.

برای انجام مراحل بعدی آزمایش از هر نمونه پانزده عدد برنج انتخاب شده و پس از ضد عفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به منظور رفع آلودگیهای سطحی و سپس شستشوی مکرر با آب مقطر استریل به منظور رفع بقایای هیپوکلریت سدیم، دانه های برنج در شرایط استریل در زیر هود آزمایشگاهی در پلیت های حاوی محیط کشت Yeast extract glucose chloramphenicol agar (YGC Agar) کشت شدند (پنج دانه برنج در هر پلیت و مجموعا" پانزده عدد از هر نمونه برنج در سه پلیت).

آلودگی نمونه ها به انواع قارچ ها با آزمایش مستقیم در صورت وجود آلودگی مشهود و همچنین کشت نمونه ها شناسایی گردید، در موارد لازم انجام اسلاید کالچر به روش ریدل برای تعیین هویت دقیق قارچ های ایزوله شده انجام شد. تکرار کشت برای موارد مشکوک مد نظر بود. پلیت‌ها به مدت حداکثر ۲۵ روز در $25^{o}C$ انکوبه شده و در طی این مدت با بازرسی مرتب پلیت ها اقدام به شمارش و شناسایی کلنی‌های قارچی گردید و درصد آلودگی آنها، تعداد کلنی های قارچی رشد کرده و همچنین نوع قارچ های آلوده کننده نمونه های برنج تعیین شد. نتایج به دست آمده به صورت میانگین ± خطای معیار تهیه شده و داده های حاصل از طریق نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته ها

براساس استانداردهای موجود درصد رطوبت مجاز برای برنج حداکثر ۱٤٪ است که در این مطالعه میانگین درصد رطوبت نمونه های مورد بررسی در محدوده استاندارد (۱۲/۴٪) بود. از ۱۵۰ نمونه برنج مورد مطالعه در این بررسی، سیزده نمونه فاقد آلودگی قارچی بود که از سیزده نمونه فوق الذکر، شش نمونه فاقد آلودگی و شش نمونه دیگر آلودگی باکتریال داشتند که به رشد کلنی های باکتریال در محیط کشت منجر گردید و یک نمونه دیگر نیز آلوده به تخم حشرات (مایت) بود که این موضوع از نظر بهداشتی اهمیت دارد. لازم به ذکر است که آلودگی باکتریال بصورت توام با آلودگی قارچی در تعداد قابل توجهی از نمونه های برنج مورد آزمایش مشاهده گردید که شامل ۳۵ نمونه برنج بود و به رشد ۶۲ کلنی باکتریال در محیط کشت های حاوی دانه های برنج تلقیح شده منجر شد که با توجه به تلقیح پنج دانه برنج در هر محیط کشت نشان دهنده آلودگی حدود ۳۹٪ از دانه های تلقیح شده به محیط کشت از ۳۵ نمونه فوق الذکر می باشد. بیشترین آلودگی قارچی مشاهده شده در برنج ها در این پژوهش، مربوط به آلودگی دانه ها با کپک ساپروفیت *Aspergillus niger* می باشد که در ۱۹ نمونه برنج مورد آزمایش، ۴۷ کلنی از این قارچ کپکی مشاهده گردید که نشان دهنده آلودگی ۴۰٪ از ۹۵ دانه برنج (تعداد دانه های برنج در هر محیط کشت ۵×۱۹ نمونه برنج) تلقیح شده به میحط کشت ها به این کپک می باشد. این کپک از نظر" قدرت تولید بالای اسید سیتریک و انواع مایکوتوکسین های ملفرمین (Melformin) اهمیت دارد.

گونه های مختلف کپک *Penicillium sp.* به تعداد ۳۹ کلنی در ۳۵ نمونه برنج در میحط کشت ها شناسایی گردید که نشان دهنده آلودگی حدود ۱۷ ٪ از مجموع دانه های تلقیح شده به محیط کشت ها بود.

کلنی های گونه *A. fumigatus* از انواع آسپرژیلوس ها، به تعداد ۳۵ کلنی در ۲۵ نمونه برنج در میحط کشت ها شناسایی شدند که نشان دهنده آلودگی حدود ۳۶٪ برنج های تلقیح شده است. این کپک از نظر تولید مایکوتوکسین هایی مانند فوماگیلین، فومی تومورجین ها، گلیوتوکسین G، هلولیک اسید، کوجیک اسید اهمیت دارد. *A. flavous* به تعداد ۲۴ کلنی در ۲۳ نمونه (۱۹٪) *A. ochraseous* به تعداد ۸ کلنی در ۵ نمونه (۳۲٪)، *A. glucous* به تعداد ۳ کلنی در ۲ نمونه (۳۰٪)، و *A. terreous*، *A. albidous* و *A. rubra* هر کدام به تعداد یک کلنی در یک نمونه (۲۰٪) دیگر گونه های متعلق به جنس آسپرژیلوس بودند.

کلنی های انواع کپک های متعلق به خانواده *موکوراسه نیز (Mucoracae) مانند موکور، آبسیدیا، رایزوموکور، رایزوپوس و .....* به تعداد ۲۲ کلنی در ۱۸ نمونه برنج تلقیح شده به محیط کشت ها شناسایی شد.

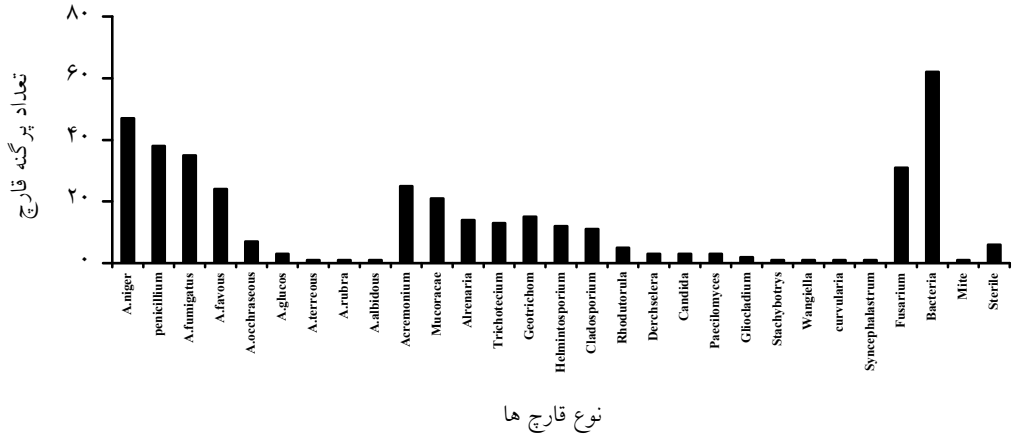
کلنی های انواع گونه های کپک سیاه یا تیره یا دیماتیکوس (Dimatiaceous) موسوم به *آلترناریا Alternaria sp.* به تعداد ۱۴ کلنی در ۵ نمونه برنج شناسایی گردید (۵۱/۵٪) که تعدادی از گونه های این قارچ قادر به تولید مایکوتوکسین هایی مانند Alternariol، Altenusin، Altenin، Altertenoeol، انواع آلتوئیک ها (Alteroics)، Tenunazoic acid، Tentoxin، انواع آلتر سولانول ها (Altersolanols)، Di-hydroisocumarin، Etemphyltoxin، سموم AAL و ... می باشند. کلنی های انواع مختلف جنس *Trichotecium sp.* نیز به تعداد ۱۳ کلنی در ۱۲ نمونه (۲۱/۵٪) در برنج های تلقیح شده به محیط کشت ها شناسایی شد. کلنی های قارچ شبه مخمری موسوم به *Geotrichom candidum* نیز به تعداد ۱۶ کلنی در ۱۰ نمونه برنج شناسایی شد (۳۲٪). کلنی های کپک سیاه موسوم به *Helminthosporium sp.* به تعداد ۱۲۵ کلنی در ۱۱

نمونه برنج (۲۱٪) شناسایی شد که انواع مختلف این قارچ از نظر تولید مایکوتوکسین های موسوم به سیتوکالازین ها (سیتوکالازین A,B,C.D.E,F,....) اهمیت داشته و با توجه به اثرات شدید سوء انواع سیتوکالازین ها در فعالیت های حیاتی سلولها، آلودگی مواد غذایی به این قارچ حائز اهمیت است. ۱۱ کلنی از انواع گونه های کپک سیاه *Cladosporium sp.* نیز در ده نمونه شناسایی شد (۲۲٪) که با توجه به قدرت تولید به اسید فاژی کلادسپوریک و اپی کلادسپوریک توسط این قارچ باید به موضوع توجه نمود.

شش کلنی قارچ مخمری *Rhodotorula rubra* در سه نمونه برنج (۴۰٪) تلقیح شده شناسایی شد. سه کلنی گونه های مختلف کپک سیاه *Derchslera sp.* در سه نمونه برنج (۲۰٪) نیز شناسایی گردید که با توجه به قدرت تولید انواع مایکوتوکسین های گروه سیتوکالازین ها توسط این قارچ و اثرات سوء شدید این مایکوتوکسین ها موضوع حائز اهمیت می باشد. همچنین کلنی های گونه های مختلف قارچ ساپروفیت شفاف موسوم به *Paecilomyces sp.* به تعداد سه کلنی از سه نمونه برنج (۲۰٪) جدا گردید که با توجه به تولید انواع متفاوتی از مایکوتوکسین ها توسط این قارچ، آلودگی مواد غذایی به این کپک حائز اهمیت است.

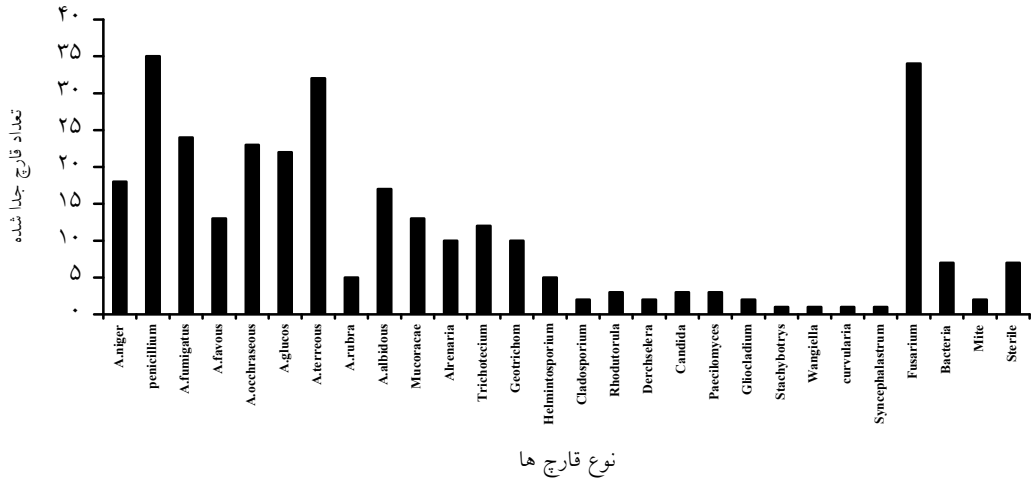
سه کلنی قارچ مخمری *Candida sp.* نیز در سه نمونه برنج در محیط های کشت شناسایی شد (۲۰٪). از گونه های قارچ کپکی *Gliocladium sp.* دو کلنی در دو نمونه برنج (۲۰٪) در محیط کشت شناسایی شد که با توجه به قدرت تولید مایکوتوکسین موسوم به گلیوتوکسین ها با اثرات شدید بر روی سیستم ایمنی بدن انسان وحیوانات به وسیله این قارچ، آلودگی مواد غذایی و منجمله برنج به این قارچ باید جدی گرفته شود. یک کلنی قارچ کپکی موسوم به *Stachuybotrys sp.* نیز در یک نمونه برنج (۲۰٪) شناسایی گردید که بویژه با توجه به تولید انواع Trichothecane توسط این قارچ و کاربرد انواع خاصی از این مایکوتوکسین ها مانند T-2 Toxin بعنوان جنگ افزار بیولوژیک، موضوع حائز اهمیت می باشد. همچنین شناسایی یک کلنی از قارچ های سیاه *Wangiella sp* و *Curvularia sp.* [هر کدام در یک نمونه برنج (۲۰٪)] حائز اهمیت می باشد زیرا این قارچها نیز دارای قدرت تولید مایکوتوکسین های متفاوتی با اثرات سوء می باشند.

همچنین یک کلنی از قارچ *Syncephalastrum sp.* در یک نمونه برنج (۲۰٪) شناسایی گردید که علیرغم تعلق این قارچ به خانواده موکوراسه با توجه به قدرت تولید انواع خاصی از مایکوتوکسین ها توسط این قارچ در شرایط خاص، موضوع قابل توجه می باشد. اما با توجه به تاکید منابع علمی بر روی آلودگی برنج به انواع فوزاریوم ها و احتساب برنج بعنوان ماده غذایی خاص برای رشد این کپک ها بر روی آن و تولید مایکوتوکسین هایی مانند انواع فومونیسین هایی...A1, A2, B1, B2, بوسیله گونه های مختلف کپک ساپروفیت شفاف موسوم به *Fusarium sp.* از مجموع ۱۵۰ نمونه برنج بررسی شده در این پژوهش، آلودگی ۳۴ نمونه برنج (۲۳۵٪) مورد بررسی به گونه های مختلف کپک فوزاریوم شناسایی شد که این آلودگی بصورت رشد ۴۹ کلنی قارچی متعلق به جنس فوزاریوم از مجموع ۱۷۰ دانه برنج (۵ دانه از هر نمونه ×۳۴ نمونه برنج) مشاهده شد که در قیاس با عدد کلی آلودگی ۲۳ درصدی نمونه های برنج به قارچ فوزاریوم، این تعداد کلنی نشان دهنده آلودگی ۲۹٪ دانه های برنج در این ۳۴ نمونه به گونه های مختلف کپک فوزاریوم می باشد و همچنانکه قبلاً متذکر گردیده ایم گونه های مختلفی از قارچ *Fusarium sp.* قادر به تولید انواع متابولیت‌های ثانویه نظیر مایکوتوکسین، رنگدانه، آنتی‌بیوتیک و فیتوتوکسین[1] می‌باشند.



نمودار۱: تعداد کلنی های قارچهای مختلف شناسایی شده در نمونه های برنج

1. Phytotoxin



نمودار۲: میزان و نوع قارچهای ایزوله شده از نمونه های برنج

بحث

یافته های این مطالعه نشان داد که آلودگی قارچی برنج ها در این مطالعه قابل توجه بوده (۲۳٪) و بیشترین گونه های قارچی مشاهده شده مربوط به جنس *آسپرژیلوس* به ویژه *A. niger, Penicillium sp., A. fumigatus, Fusarium sp., Acremonium sp., A. flavus, Mucoracae, Alternaria sp., Trichothecium sp., Geotrichom sp., Helmintosporium sp., Cladosporium A. glocus, sp., A. A. ochraceous, Rhodotorula rubra Peacilomyces sp., Derchselera sp., Candida sp., Gliocladium sp., Stachybotrys sp., A. terreous, A. albidous, A. rubra, Wangiella sp., Curvularia sp, Syncephalastrum sp,* بود. همچنین آلودگی ۴۱ نمونه از برنج ها به عوامل باکتریال مشخص گردید و یکی از نمونه های برنج نیز دارای آلودگی به تخم حشرات (مایت) بود (نمودار ۱ و ۲). نتایج فوق نشان می دهد که میزان آلودگی برنج ها و همچنین نوع قارچ های آلوده کننده آنها نگران کننده است زیرا قسمت عمده این قارچها مولد مایکوتوکسین های خطرناکی هستند که ممکن است بعضی از این سموم مقاوم به حرارت بوده و در طی مرحله طبخ **برنج نیز** از بین نرفته و در نهایت از طریق زنجیره غذایی وارد بدن انسان شده و در دراز مدت ایجاد عوارضی نظیر سرطان، اختلالات کبدی، گوارشی، خونی و یا کلیوی را بنمایند (۲۴-۲۰ و ۱۵ و ۴). مثلا" انواع گونه های *Penicillium sp.* از نظر تولید مایکوتوکسین های مختلف و دارای اثرات سوء متعدد بر اندام های مختلف بدن حائز اهمیت فراوان می باشند به نحوی که مایکوتوکسین هایی مانند روگولین (Rugulin)، روگولوزین (Rugulosin)، لوتئواسکرین (Luteoskyrin)، سیترینین (Citrinin)، گریزو فولوین، جانتی ترم ها، مایکوفنولیک اسید، اوکراتوکسین A، پاتولین (Patulin)، پاکسی لین، پنی سیلیک اسید، پنی ترم ها، سم PR، انواع روبراتوکسین ها، سکالونیک اسید، ویریدیکاتوم توکسین، گرانتوسیلین، گزانتومگنین و... بوسیله گونه های مختلف این قارچ در هنگام رشد بر روی مواد غذایی تولید می گردند (۲۵ و ۱۴ و ۱۱ و ۸ و ۵ و ۲) و یا به عنوان نمونه ای دیگر، گونه های مختلف آسپرژیلوس دارای قدرت تولید طیف وسیعی از مایکوتوکسن ها مانند انواع آفلاتوکسین های B1,B2,G1,G2,Q، افلاتوکسیکول، آفلاترم، آسکلادیول، آسپرژ یلیک اسید، سیترئوویریدین، سیکلوپیازونیک اسید، اریتروگلاسین، انواع اوکراتوکسین های A,B ، استریگما توسیستین، ترئیک اسید، ویوملئین ها و ورسی کلرین ها را دارند و با توجه به اثرات سوء عدیده این مایکوتوکسین ها بر سلامتی جامعه انسانی و دامی از نظر بهداشت مواد غذایی حائز اهمیت فراوان می باشند. همچنین فومونیسین‌ها گروهی از مایکوتوکسین‌های فوزاریومی هستند که اولین بار در سال ۱۹۸۸ از قارچ فوزاریوم مونیلی فرم سویهٔ MRC ۸۲۶ جداسازی شدند و فومونیسین‌های B۱، B۲ و B۳ بیشترین فراوانی را در نمونه‌های برنج و ذرت و بعضی دیگر از غلات آلوده در سطح مزرعه دارند. در حال حاضر، بیش از ۱۵ نوع از این متابولیت‌ها شناسایی شده‌اند. گونه های فوزاریوم نیگامایی، فوزاریوم پرولیفراتوم، فوزاریوم آنتوفیلوم، فوزاریوم دلامینی، فوزاریوم ناپیفرم اصلی ترین گونه های فوزاریوم مولد فومونیسین B۱ محسوب می گردند(۲٤ و ۲۰ و ۱۹ و ۱۳).

در این آزمایش میانگین درصد رطوبت نمونه های مورد بررسی در محدوده استاندارد (۱۲/۴٪) بود. ا اندازه‌گیری میزان آب در مواد غذایی حائز اهمیت بسیار زیادی بوده و بدون در دست داشتن مقدار مجاز رطوبت موجود در مواد غذایی ارزیابی سایر مواد متشکله غذاها و تغییر نتایج حاصل از اندازه‌گیریهای مختلف مشکل یا غیر ممکن خواهد بود. با توجه به نرمال بودن درصد رطوبت نمونه های برنج در این مطالعه، به نظر می رسد که شرایط نامساعد دیگری نظیر درجه حرارت بالای محل نگهداری برنج ها در فروشگاه ها یا انبارها در عمده فروشی ها یا بنکدارها، آلوده

بودن محیط نگهداری و فساد قارچی و میکروبی خود دانه ها و نیز آلوده شدن برنج در طی مراحل تولید در در افزایش آلودگی قارچی برنج و در نتیجه تولید مایکوتوکسینها موثر باشد (۲۶) ولی البته تعدادی از قارچهای شناسایی شده در این مطالعه از نظر تولید مایکوتوکسین اهمیت ندارند ولی با توجه به قدرت فراوان آنزیماتیک آنها، حضور این قارچها در روی مواد غذایی از نظر بهداشتی مردود بوده و باید کنترل شود.

نتایج تحقیق حاضر به نظر می رسد که بانتایج مطالعات دیگر مطابقت داشته باشد. در مطالعات انجام یافته در ترکیه و عمان و مصر در زمینه بررسی آلودگی های قارچی برنج، گونه های قارچی ایزوله شده متعلق به جنس *آسپرژیلوس ، پنیسیلیوم و پسیلومایسس* بوده و آلودگی نمونه ها به افلاتوکسین ها روشن گردید (۱۸). در بررسی اخوت و همکاران در ایران در مورد آلودگی غلات وارداتی، حضور قارچهایی نظیر انواع *Aspergillus sp, Penicillium sp.* و *Fusarim sp.* نشان داده شد (۱۰). در مطالعات دیگری آلودگی نمونه های برنج به افلاتوکسین ها و تریکوتسن ها که معمولاً ناشی از آسپرژیلوس ها و انواع فوزاریوم ها می باشند؛ مشخص شد. و بررسی دیگری نشان دهنده وجود مایکوتوکسین های ناشی از انواع قارچهای سیاه جنس *Alternaria sp.* بوده است. در مطالعات دیگری وجود قارچهای بیماریزا و مایکوتوکسینوژنی مانند *Aspergillus sp. , Trichothecium sp. Claviceps sp., Pencillium sp. ,Fusarim sp. ,Alternaria sp. Cladosporium sp.,* و *Ulocladium sp.* و *Rhizopus nigricans* مایکو توکسین های حاصله را در برنج و سایر مواد غذایی را نشان داده شده است (۱۶-۲۰، ۱۱، ۵، ۳). بررسی غیاثیان و همکاران در مورد آلودگی غلات در ایران به فومونیسین در سال ۱۳۷۹ و سالهای بعد نشان دهنده الودگی بیشتر غلات تولیدی استان مازندران نسبت به غلات بقیه استان ها بوده است و همین محقق در بررسی آلودگی غلات غلات استان های خوزستان، کرمانشاه، مرکزی و فارس به قارچ های مولد فومونیسین، الودگی به این مایکوتوکسین و *فوزاریوم ورتیسیلیوئیدس و ف. پرولیفراتوم* را شناسایی کرده است (۱۳). بررسی رزاقی ابیانه و همکاران در مورد آلودگی خاک های مناطق کشت غلات در استان های سمنان و مازندران نشان دهنده آلودگی شدید این مناطق به انواع اسپرژیلوس ها بوده است و بررسی صابری و همکاران در مورد آلودگی غلات به انواع قارچ های مولد مایکوتوکسین ها نمایانگر آلودگی به انواع *کپک ها* می باشد (۱۵ و ۹). Shephard و همکاران در اندازه گیری آلودگی ذرت در استان های مازندران و اصفهان به فومونیسین در ارتباط با نقش این سم در بروز سرطان مری، میزان آلودگی در ذرت های استان مازندران را بیش از ذرت های استان اصفهان اندازه گیری کرده و در اینمورد به شیوع بیشتر سرطان مری در استان مازندران نسبت به استان اصفهان اشاره نموده است و یزدان پناه و همکاران در تحقیقات خود در مورد آلودگی ذرت به فومونیسین، کاهش میزان این سم در نمونه های سال های ۱۳۷۹-۱۳۷۷ نسبت به نمونه های مورد بررسی در سالهای ۱۳۷۷-۱۳۷۵ را گزارش کرده است (۹).

البته مشکل آلودگی غلات و بویژه برنج و ذرت به فومونیسین مشکلی جهانی بوده ولی رعایت موارد لازم و تقلیل میزان این مایکوتوکسین در مصر در دهه ۱۹۹۰، کشورهای اورپای شرقی و مرکزی در دهه های ۲۰۰۶-۱۹۹۰، برزیل در ۱۹۹۵ و آلمان در سال های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۵ نشان دهنده توفیق سیستم کشاورزی و تولید غلات این کشورها در حذف و یا تقلیل موثر وجود سم در غلات تولیدی بوده است (۲۱ و ۱۸ و ۵ و ۳ و ۱).

مقایسه نتایج به دست آمده از نمونه های مورد مطالعه در این پژوهش با نتایج مطالعات مشابه نظیر در مورد آلودگی محصولات کشاورزی به قارچ های مولد مایکوتوکسین ها در ایران، تطابق دارد (۲۱ و ۱۹-۱۸ و ۱۰-۸ و ۲-۱). در یک چشم انداز کلی، مطالعات انجام یافته در مورد انواع مایکوتوکسین ها در ایران (۳۵ و ۳۴ و ۳۰-۲۷ و ۱۵ و ۱۳ و ۱۰ و ۸)، نشان دهنده آلودگی قابل توجه مواد غذایی گیاهی و حیوانی، غلات، شیر و فرآورده های لبنی، تخم مرغ، عصاره و افشره میوه جات و صیفی جات (سرکه، آبغوره، آب لیمو، آبمیوه ها و ...)، کنسانتره ها و دانه های روغنی به انواع مایکوتوکسین ها می باشد و این موضوع مسئله ای بغایت مهم از نظر بهداشت و سلامت عمومی جامعه و بهداشت مواد غذایی است.

نتیجه گیری

با توجه به مصرف زیاد برنج در ایران؛ لزوم انجام مطالعات تکمیلی و اندازه گیری مقادیر مایکوتوکسین ها در مواد غذایی، وضع مقررات بهداشتی برای تعیین حد مجاز مایکوتوکسین ها در مواد غذایی، اتخاذ تدابیر لازم و پیشگیرانه برای جلوگیری از بروز آلودگی های قارچی در مواد غذایی و توجه به اجرای روش های حذف و یا کاهش میزان مایکوتوکسین ها در مواد غذایی احساس شده و ضرورت پیگیری مسئولین ذیربط در کلیه مراحل تولید و توزیع و نگهداری برنج با هدف به حداقل رساندن آلودگی های قارچی جدی می باشد. پیشنهادهای موثر در زمینه جلوگیری از آلودگی قارچی فرآورده های برنج می تواند شامل موارد زیر باشد:

۱- رعایت یک چرخه کنترل بهداشتی دقیق است در مراحل تولید، بهداشت پرسنل، رعایت بهداشت در حین حمل و نقل و نگهداری موادخام اولیه، رعایت بهداشت در نگهداری محصول و رعایت بهداشت وسایل بسته بندی برای تاثیر گذاری جهت کاهش فسادهای قارچی و میکروبی.

۲- کنترل درجه حرارت انبارهای برنج در حد کمتر از $۲۰^{o}C$ درجه سانتیگراد.

۳- کاهش ضایعات برنج در مراحل تولید برنج شامل کارخانه های برنج کوبی، حمل ونقل و بازسازی کارخانجات برنج کوبی متناسب با نیازهای هر منطقه.

۴- ایجاد سیلوهای مخصوص ذخیره برنج جهت بالا بردن کیفیت برنج، برطرف کردن مشکلات مزارع برنج مانند آفات قارچی بوته های برنج.

۵- نگهداری برنج در انبارهای استاندارد و فاقد رطوبت در کارخانه های برنج کوبی و یا پس از تحویل آن به مشتریان عمده.

۶- کنترل رطوبت بیش از حد برنج در موقع دریافت شالی از کشاورزان در کارخانه های برنج کوبی و یا نگهداری آن در انبارها و یا موقع تحویل دادن برنج به مشتریان عمده برای انبار یا ذخیره کردن آن حتی بمدت کوتاه.

۷- حذف شن، ریگ، بذر علف های هرز، دانه های صدمه دیده برنج و امحا جوندگان در کارخانه های برنج کوبی (۳۶و ۱۷و ۱۱و ۵و ۳).

تقدیر و تشکر

این بررسی با مساعدت مالی استانداری و سازمان مدیریت و برنامه ریزی استان آذربایجان شرقی به عنوان طرح تحقیقاتی مصوب انجام پذیرفت که محققین و مولف بدینوسیله از تامین کنندگان هزینه انجام پژوهش سپاسگزاری می نمایند.

References

1. Pussemier L, Pierard JY, Anselme M, Tangni EK, Motte JC, Larondelle Y. Development and application of analytical methods for the determination of mycotoxins in organic and conventional wheat. *Food Addit Contam* 2006; **23** (11): 1208-18.
2. Betina V. Mycotoxins as secondary metabolites. In: Bioactive molecules, Vol. 9: Mycotoxins, chemical, biological and environmental aspects, Elsevier publication 1989; P: 27-41.
3. Kabak B, Dobson AD, Var I. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2006; **46** (8): 593-619.
4. Sewram V, Mshicileli N, Shephard GS, Vismer HF, Rheeder JP, Lee YW, et al. Production of fumonisin B and C analogues by several fusarium species. *J Agric Food Chem* 2005; **53** (12): 4861-6.
5. Wilson DM, Mubatanhema W, Jurjevic Z. Biology and ecology of mycotoxigenic Aspergillus species as related to economic and health concerns. *Adv Exp Med Biol* 2002; **504**: 3-17.
6. Jennessen J, Nielsen KF, Houbraken J, Lyhne EK, Schnurer J, Frisvad JC, et al. Secondary metabolite and mycotoxin production by the Rhizopus microsporus group. *J Agric Food Chem* 2005; **53** (5): 1833-40.
7. Takatori K, Aihara M, Sugita-Konishi Y. Hazardous food-borne fungi and present and future approaches to the mycotoxin regulations in Japan. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku* 2006; **124**: 21-9.
8. کاظمی عبدالحسن، نیک نام غلامحسین. بررسی آلودگی برخی از محصولات کشاورزی به گونه های فوزاریوم مولد مایکوتوکسین های تریکوتیسین در تبریز، *مجله دانشگاه علوم پزشکی تبریز*، دوره ۲۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۵، صفحات ۹۴-۹۱.
9. Raji HG. Saxena M. Allameh A. Mukerji KG. Metabolism of foreign compounds by fungi. In: Arora DK, Elander RP, Mukerji K G. *Handbook of Applied Mycology*, Vol. 4: Fungal Biotechnology. Marcel Dekker Inc, New York 1992; P: 881-905.
10. Okhovvat SM, Zakeri Z. Identification of fungal diseases associated with imported wheat in Iranian silos. *Commun Agric Appl Biol Sci* 2003; **68** (4 pt B) 533-5.
11. Wilson DM, Mubatanhema W, Jurjevic Z. Biology and ecology of mycotoxigenic Aspergillus species as related to economic and health concerns. *Adv Exp Med Biol*. 2002; **504**: 3-17.
12. Li MH, Ji C, Cheng SJ. Occurrence of nitroso compounds in fungi- contaminated foods: a review. *Nutr Cancer* 1986; **8** (1): 63-9.
13. Ghiasian SA, Maghsood AH, Yazdanpanah H, Shephard GS, Van Der Westhuizen L, Vismer HF, *et al*. Incidence of Fusarium levels of fumonisins in corn from main production areas in Iran. *J Agric Food Chem* 2006; 9; **54** (16): 6118-22.
14. Desai MR, Ghosh S. Occupational exposure to airborne fungi among rice mill workers with special reference to aflatoxin producing *A. flavus* strains. *Ann Agric Environ* 2003; **10** (2): 159-62.
15. Razzaghi-Abyaneh M, Shams-Ghahfarokhi M, Allameh A, Kazeroon-Shiri A, Ranjbar-Bahadori S, Mirzahoseini H, *et al*. A survey on distribution of Aspergillus section Flavi in corn field soils in Iran: *Mycopathologia* 2006; **161** (3): 183-92.
16. Udagawa S, Tatsuno T. Safety of rice grains and mycotoxins - a historical review of yellow rice mycotoxicoses. *Yakushigaku Zasshi* 2004; **39** (2): 321-42.
17. Park JW, Choi SY, Hwang HJ, Kim YB. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. *Int J Food Microbiol* 2005; 15; **103** (3): 305-14.
18. Scallan E. Activities, achievements, and lessons learned during the first 10 years of the Foodborne Diseases Active Surveillance Network: 1996-2005. *Clin Infect Dis* 2007; 1; **44** (5): 718-25.
19. Schollenberger M, Suchy S, Jara HT, Drochner W, Muller HM. A survey of fusarium toxins in cereal based foods marketed in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* 1999; **147** (1): 49-57.

۲۸. میکائیلی علی، بررسی گونه های قارچی آفلاتوکسینوژن آرد و نان خشک شهر کرمانشاه ۱۳۸۲ ، کتاب خلاصه مقالات نهمین کنگره تغذیه ایران (۱۳۸۵)، ص ۲۱۶.

۲۹. حیدری‌نیا احمد، بررسی نتایج چند طرح تحقیقاتی در رابطه با میکوتوکسین‌ها و اهمیت این مواد سمی، کتاب خلاصه مقالات نهمین کنگره تغذیه ایران (۱۳۸۵)، ص ۲۲۵

۳۰. قاضی خوانساری محمود، هادیانی محمد رسول. اثر مایکوتوکسین های استروژنیک در اختلالات باروری. *باروری و ناباروری*، زمستان ۱۳۸۱؛ **۷۵** (مسلسل ۱۳): صفحات ۸۶-۸۲.

31. Gelli DS, Jakabi M, Souza A. Botulism: a laboratory investigation on biological and food samples from cases in Brazil (1982-2001). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2002; **44** (6): 321-4.
32. Corry JE, Jarvis B, Passmore S, Hedges A. A critical review of measurement uncertainty in the enumeration of food micro-organisms. *Food Microbiol* 2007; **24** (3): 230-53.
33. Trucksess MW, Pohland AE. Methods and method evaluation for mycotoxins. *Mol Biotechnol* 2002; **22** (3): 287-92.

۳۴. هدایتی محمد تقی، محمد پور رضا علی،. میزان آلودگی نمونه‌های گندم انبارهای استان مازندران به آسپرژیلوس فلاووس و آفلاتوکسین، *بهبود*، بهار ۱۳۸٤؛ **۱۹**(پیاپی ۲٤): صفحات ۵۱-۵۷.

۳۵. هدایتی محمد تقی. بررسی میزان مایکوتوکسین زیرالنون در گندم های انباری استان مازندران۱۳۸۱، *مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران*، آذر و دی ۱۳۸٤. **۱۵**، صفحات ٤۹ -۹٤.

36. Anitha R, Murugesan K. Production of gliotoxin on natural substrates by *Trichoderma virens*. *J Basic Microbiol* 2005; **45** (1): 12-9.

20. Qiu M, Liu X, Wang Y, Zhang C. Survey on the fumonisins intake and urinary Sa/So ratio of people suffered from high incidence of esophageal cancer. *Wei Sheng Yan Jiu* 2001; **30** (6): 365-7.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Preliminary Food Net data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food-10 states, 2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007; **56** (14): 336-9.
22. Isaacson C. The change of the staple diet of black South Africans from sorghum to maize (corn) is the cause of the epidemic of squamous carcinoma of the esophagus. *Med Hypotheses* 2005; **64** (3): 658-60.
23. Rheeder JP, Marasas WF. Fusarium species from plant debris associated with soils from maize production areas in the Transkei region of South Africa. *Mycopathologia* 1998**; 143** (2): 113-9.
24. Yoshizawa T, Yamashita A, Luo Y. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. *Appl Environ Microbiol* 1994; **60** (5): 1626-9.
25. Pardo E, Marin S, Ramos AJ, Sanchis V. Ecophysiology of ochratoxigenic Aspergillus ochraceus and Penicillium verrucosum isolates. Predictive models for fungal spoilage prevention - a review. *Food Addit Contam* 2006; **23** (4): 398-410.
26. Beyer M, Verreet JA, Ragab WS. Effect of relative humidity on germination of ascospores and macroconidia of Gibberella zeae and deoxynivalenol production. *Int J Food Microbiol* 2005; **98** (3): 233-40.

۲۷. کاظمی عبدالحسن، مهتدی نیا جواد، جباری مرتضی، برومند المیرا، سرکاراتی گلناز، صدری سمیه. بررسی میزان آلودگیهای قارچی چایهای مصرفی استان آذربایجان شرقی، کتاب خلاصه مقالات نهمین کنگره تغذیه ایران (۱۳۸۵)، ص ۲۴۷.