

## ارزیابی مقایسه‌ای آلودگی به آفلاتوکسین‌های *B1* و *G1* در روغن‌های کنجد، آفتابگردان و کلزای استحصالی به روش پرس سرد در اصفهان

قاسم امینی خوئی<sup>۱</sup>، نجمه واحد دهکردی<sup>۲\*</sup>، ابراهیم رحیمی<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر کرد، ایران
۲. استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر کرد، ایران
۳. استاد، مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهر کرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر کرد، ایران

• نویسنده رابط: najmeh.vaheddehkordi@iau.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۹/۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۳۰

### چکیده

**زمینه و هدف:** گسترش واحدهای تولید روغن به روش پرس سرد، علیرغم مزایای تغذیه‌ای، چالش‌های جدیدی را در حوزه ایمنی مواد غذایی ایجاد کرده است. آفلاتوکسین‌ها به عنوان کارسینوژن‌های قطعی، پتانسیل بالایی برای پایداری در روغن‌های غیرتصفیه شده دارند. این مطالعه با هدف ارزیابی مقایسه‌ای غلظت آفلاتوکسین‌های *B1* و *G1* در روغن‌های پرس سرد کنجد، آفتابگردان و کلزا در شهر اصفهان انجام شد. **روش کار:** در این پژوهش توصیفی-تحلیلی، ۵۰ نمونه روغن (۲۰ کنجد، ۱۵ آفتابگردان و ۱۵ کلزا) به صورت تصادفی جمع‌آوری گردید. سنجش آفلاتوکسین‌ها با استفاده از روش الایزای رقابتی و کیت‌های اختصاصی با حد تشخیص  $0.5 \mu\text{g/kg}$  انجام یافت. داده‌ها پس از قرائت نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با آزمون‌های ANOVA و Tukey در نرم‌افزار SPSS 26 تحلیل شدند.

**نتایج:** تحلیل داده‌ها نشان‌دهنده توزیع نامتوازن و معنادار آلودگی در انواع روغن بود ( $p < 0.05$ )، به طوری که روغن کنجد با میانگین  $\mu\text{g/kg}$   $7.1 \pm 6.6/6.1$  برای *AFB1* بالاترین سطح آلودگی را به خود اختصاص داد که ۱۰۰٪ نمونه‌های آن فراتر از حد مجاز اتحادیه اروپا ( $2 \mu\text{g/kg}$ ) ارزیابی شدند. روغن آفتابگردان با میانگین  $1.79 \mu\text{g/kg}$  در رده خطر متوسط و نزدیک به آستانه بحرانی قرار داشت. در مقابل، روغن کلزا با میانگین  $0.41 \mu\text{g/kg}$  کمترین میزان آلودگی را نشان داد. همچنین در تمامی نمونه‌های مثبت، غلظت *AFB1* به طور میانگین  $3/2$  برابر *AFG1* برآورد شد که بیانگر غالب بودن این توکسین است.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌ها مؤید آن است که فرآیند پرس سرد قادر به حذف آفلاتوکسین‌های منتقل شده از دانه خام نیست. با توجه به آلودگی بحرانی در روغن کنجد، پایش مستمر سلامت دانه‌های ورودی و آگاهی‌بخشی به مصرف‌کنندگان در خصوص انتخاب روغن‌های کم‌خطرتر مانند کلزا، ضرورتی اجتناب‌ناپذیر برای ارتقای سلامت عمومی است.

**واژگان کلیدی:** آفلاتوکسین، پرس سرد، روغن کنجد، الایزا، بهداشت مواد غذایی

## مقدمه

در سالیان اخیر، تغییر پارادایم در الگوهای مصرفی جوامع و افزایش تمایل به رژیم‌های غذایی ارگانیک و کم‌فرآوری‌شده، جایگاه روغن‌های نباتی استحصالی به روش پرس سرد را در سبد غذایی خانوار تثبیت کرده است. این روغن‌ها که به عنوان "روغن‌های بکر" نیز شناخته می‌شوند، به دلیل عدم مواجهه با دماهای بالای  $200^{\circ}\text{C}$  و حذف فرآیندهای تصفیه شیمیایی (مانند خنثی‌سازی با سود و بی‌رنگ‌سازی با خاک‌های رنگ‌بر)، مقادیر بالاتری از ترکیبات فنولی، توکوفرول‌ها و فیتواسترول‌ها را در مقایسه با روغن‌های تصفیه شده حفظ می‌کنند (۱). با این حال، همین مزیت تغذیه‌ای از منظر سم‌شناسی مواد غذایی یک "پاشنه آشیل" محسوب می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که فرآیندهای پالایش صنعتی قادرند تا حد زیادی بار آلاینده‌های شیمیایی و مایکوتوکسین‌ها را کاهش دهند، اما در واحدهای روغن‌گیری کوچک‌مقیاس، به دلیل حذف این مراحل، پتانسیل انتقال مستقیم سموم از دانه آلوده به روغن نهایی به شدت افزایش می‌یابد (۲).

مایکوتوکسین‌ها به عنوان آلاینده‌های اجتناب‌ناپذیر در زنجیره تأمین مواد غذایی، سالانه میلیاردها دلار خسارت اقتصادی به بخش کشاورزی وارد کرده و سلامت بیش از ۲۵٪ از جمعیت جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. آفلاتوکسین‌ها به دلیل پایداری شیمیایی بالا، حتی پس از فرآیند استخراج مکانیکی نیز در فاز چربی باقی می‌مانند (۳). علاوه بر خطرات حاد، مواجهه مزمن با مقادیر اندک این سموم در روغن‌های مصرفی روزانه، می‌تواند منجر به استرس اکسیداتیو، کاهش کارایی سیستم ایمنی و اختلال در متابولیسم چربی‌ها در کبد شود. این پایداری شیمیایی باعث شده است که حتی دمای پخت‌وپز معمولی نیز قادر به تخریب ساختار حلقه دی‌فورفوران در مولکول آفلاتوکسین نباشد (۴).

در میان آلاینده‌های بیولوژیک، مایکوتوکسین‌ها و در رأس آنها آفلاتوکسین‌ها (Aflatoxins)، به دلیل پایداری حرارتی بالا و سمیت فوق‌العاده، نگران‌کننده‌ترین چالش در ایمنی دانه‌های روغنی هستند. آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌های رشته‌ای نظیر *Aspergillus* و *Aspergillus flavus* *parasiticus* می‌باشند که در شرایط رطوبتی بالاتر از ۱۴٪ و دمای ۲۵ تا  $35^{\circ}\text{C}$ ، به سرعت بر روی دانه‌هایی نظیر کنجد و آفتابگردان تکثیر می‌شوند (۵). طبق گزارش آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer (IARC)، آفلاتوکسین B1 خطرناک‌ترین نوع این سموم بوده و به عنوان یک کارسینوژن قطعی گروه ۱ معرفی شده است. مکانیسم سمیت این ترکیب از طریق تشکیل اپوکسید در کبد و اتصال به DNA است که منجر به جهش در ژن سرکوب‌کننده تومور p53 و در نهایت بروز سرطان کبد می‌گردد (۶).

تنوع ساختاری و بیوشیمیایی دانه‌های روغنی، عامل تعیین‌کننده‌ای در میزان حساسیت آنها به رشد قارچی است. دانه کنجد (*Sesamum indicum*) به دلیل پوسته نفوذپذیر و محتوای پروتئینی بالا، ماتریکس بسیار مناسبی برای ستنز آفلاتوکسین فراهم می‌کند؛ به‌ویژه در مناطقی با اقلیم گرم و مرطوب که شرایط انبارمانی غیراستاندارد است (۷). علاوه بر این، دانه‌های کنجد به دلیل اندازه کوچک، سطح تماس بیشتری با هوای محیط داشته و به سرعت رطوبت را جذب می‌کنند که این امر بیوسنتز سموم توسط قارچ‌های فیلد و انبار را تسهیل می‌نماید (۸). در مقابل، دانه آفتابگردان علیرغم داشتن پوسته سخت، در صورت آسیب‌های فیزیکی یا حملات حشره‌ای، مستعد نفوذ میسلیم‌های قارچی به مغز دانه می‌گردد. از سوی دیگر، کلزا به دلیل کشت در فصول سردتر و ساختار بیوشیمیایی

## روش کار

۱-۲. طراحی مطالعه و جمع‌آوری نمونه‌ها: در این پژوهش توصیفی-تحلیلی که در تابستان ۱۴۰۴ در شهر اصفهان انجام شد، جهت تعیین حجم نمونه از فرمول کوکران برای جوامع محدود استفاده گردید. با توجه به برآورد تقریبی وجود ۶۰ واحد فعال روغن‌گیری پرس سرد در سطح شهر و در نظر گرفتن سطح اطمینان ۹۵٪ و خطای ۸٪ تعداد ۵۰ نمونه به عنوان حجم نمونه بهینه تعیین شد. به دلیل محدودیت در تعداد کیت‌های الیزا و ماهیت مطالعه که یک غربالگری منطقه‌ای بود، خطای ۸٪ برای دستیابی به یک نتیجه قابل اتکا در سطح اطمینان ۹۵٪ پذیرفته شد. انتخاب واحدهای روغن‌گیری بر اساس نمونه‌برداری تصادفی طبقه‌بندی شده از ۵ منطقه اصلی شهرداری اصفهان انجام شد تا پراکندگی جغرافیایی رعایت شود. معیارهای ورود شامل: (۱) واحدهایی که روغن را در حضور مشتری و به روش پرس سرد تولید می‌کنند. (۲) واحدهایی که حداقل ۶ ماه سابقه فعالیت مداوم داشتند. معیارهای خروج شامل: (۱) روغن‌هایی که دارای افزودنی یا نگهدارنده بودند. (۲) واحدهایی که دانه‌های روغنی را به صورت فله و بدون مشخصات انبارداری نگهداری می‌کردند (به دلیل احتمال آلودگی ثانویه که هدف مطالعه را منحرف می‌کرد). این نمونه‌ها شامل ۲۰ مورد روغن کنجد، ۱۵ مورد روغن آفتابگردان و ۱۵ مورد روغن کلزا بودند که بلافاصله در ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل شدند.

۲-۲. مواد و تجهیزات: تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از گرید تجزیه‌ای تهیه شدند. تجهیزات و کیت‌های اصلی مورد استفاده در این تحقیق عبارتند از: کیت الیزای ارزیابی کمی آفاتوکسین B1 و G1 (زیست‌فناور کاوش، ایران). الیزا ریدر Stat Fax (Awareness Technology، آمریکا). میکسر مدل V-1 Plus (Biosan، لتونی). سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل

متفاوت، معمولاً بار آلودگی کمتری را نشان می‌دهد، اما گزارش‌های اخیر حاکی از آن است که تغییرات اقلیمی و تنش‌های خشکی پایان فصل، الگوی توزیع قارچ‌های سم‌زا را حتی در محصولات مقاوم نیز تغییر داده است (۹).

در کشور ایران، با گسترش قارچ‌گونه واحدهای فروش مستقیم روغن در سطح شهرها و فقدان پایش مستمر بر سلامت دانه‌های ورودی، ضرورت ارزیابی ریسک این محصولات دوچندان شده است. سازمان ملی استاندارد ایران در استاندارد شماره ۵۹۲۵، حد مجاز سخت‌گیرانه‌ای را برای مایکوتوکسین‌ها در روغن‌های خوراکی وضع کرده است، اما نظارت بر واحدهای سنتی همواره با چالش‌های عملیاتی همراه بوده است (۱۰). از آنجا که روش‌های سنتی تشخیص آلودگی قادر به شناسایی سطوح میکرونی سموم نیستند، بهره‌گیری از تکنیک‌های حساس آزمایشگاهی امری اجتناب‌ناپذیر است. روش الیزا به دلیل حساسیت بالا، سرعت در پاسخ‌دهی و حد تشخیص پایین، ابزاری کارآمد برای غربالگری وسیع نمونه‌ها در زنجیره تامین مواد غذایی محسوب می‌شود (۱۱). پژوهش حاضر با رویکردی مقایسه‌ای، به دنبال ارزیابی همزمان بار آلودگی در واحدهای تولید و عرضه مستقیم روغن (Small-scale local oil mills) است که به دلیل حذف کامل مراحل رنگ‌بری و بوگیری، با چالش جدی انتقال مستقیم سموم روبرو هستند. همچنین، این مطالعه با واکاوی دلیل تفاوت نرخ انتقال آفاتوکسین در سه ماتریکس گیاهی متفاوت (کنجد، آفتابگردان و کلزا) در اقلیم اصفهان و تطبیق آن با استانداردهای سخت‌گیرانه اتحادیه اروپا (۱۲) به دنبال شناسایی ایمن‌ترین الگوی مصرف برای جامعه است؛ امری که تاکنون در مطالعات منطقه‌ای با این جزئیات مورد واکاوی قرار نگرفته بود.

۲۴ شاخه ( تجهیزات آزمایشگاهی بهداد، ایران). ترازو دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم (شرکت AND، ژاپن). حلال متانول و n-هگزان (مرک، آلمان).

۲-۳. آماده‌سازی و استخراج نمونه: با توجه به اثرات مداخله‌گر تری‌گلیسریدها در واکنش‌های ایمنولوژیک، مرحله چربی‌زدایی با دقت انجام شد. استخراج آفاتوکسین از ماتریکس پیچیده روغن بر اساس دستورالعمل بهینه‌سازی شده انجام شد (۱). مقدار ۵ گرم از هر نمونه روغن با دقت ۰/۰۱ گرم وزن شده و به لوله‌های فالكون ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. برای حذف چربی‌های مداخله‌گر، ۱۰ میلی‌لیتر n-هگزان به نمونه اضافه و به مدت ۵ دقیقه شیک گردید. سپس ۲۵ میلی‌لیتر محلول متانول/آب (۷۰:۳۰) به عنوان حلال استخراجی اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید تا جداسازی فازها صورت گیرد. فاز متانولی جدا شده و جهت سنجش نهایی با بافر مخصوص کیت رقیق‌سازی شد.

۲-۴. مراحل سنجش الایزا: سنجش بر پایه روش الایزای رقابتی طبق پروتکل شرکت سازنده کیت (زیست‌فناور کاوش) طی مراحل زیر انجام یافت: مقدار ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد و نمونه‌های آماده شده به چاهک‌های میکروپلیت اضافه شد. مقدار ۵۰ میکرولیتر کنژوگه آنزیمی به هر چاهک افزوده و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و تاریکی، چاهک‌ها ۳ مرتبه با بافر شستشو شسته شدند. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا (Tetramethylbenzidine; TMB) اضافه شده و ۱۰ دقیقه انکوباسیون انجام گردید تا ظهور رنگ آبی مشاهده شود. با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده، رنگ از آبی به زرد تغییر یافت. در نهایت، جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا ریدر قرائت شد. در این مطالعه از کیت اختصاصی با حد تشخیص

پایین ( $LOD = 0.5 \mu g/kg$ ) استفاده شد. برای افزایش اعتبار، تمامی آزمایش‌ها به صورت دو تکرار انجام شد و ضریب تغییرات زیر ۱۰٪ به دست آمد که نشان‌دهنده تکرارپذیری بالای روش است. همچنین مرحله چربی‌زدایی با n-هگزان برای حذف مداخلات ماتریکس با دقت بسیار بالا انجام گرفت تا نتایج الایزا بیشترین همخوانی را با واقعیت داشته باشد. اگرچه High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) روش مرجع است، اما روش الایزا توسط سازمان‌های معتبری مثل AOAC برای غربالگری سریع (High-throughput Screening) مایکوتوکسین‌ها در ماتریکس‌های پیچیده روغنی تایید شده است.

۲-۵. تحلیل آماری و حد تشخیص: غلظت سموم با استفاده از رسم منحنی استاندارد محاسبه گردید. حد تشخیص (Limit of Detection; LOD) و حد کمی‌سازی (Limit of Quantitation; LOQ) بر اساس نسبت سیگنال به نویز (۳:۱ و ۱۰:۱) تعیین شدند. مقدار LOD برای آفاتوکسین B1 معادل  $0.5 \mu g/kg$  و برای آفاتوکسین کل  $1/1 \mu g/kg$  برآورد گردید. جهت توصیف داده‌ها از شاخص‌های آمار توصیفی شامل میانگین، انحراف معیار، دامنه تغییرات (کمینه و بیشینه) و فراوانی نسبی آلودگی استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 26 انجام گرفت. قبل از تحلیل داده‌ها، پیش‌فرض نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk) در نرم‌افزار SPSS 26 بررسی گردید. با توجه به اینکه مقادیر p در این آزمون‌ها بزرگتر از ۰/۰۵ بود، نرمال بودن داده‌ها تایید شد. جهت مقایسه میانگین غلظت سموم در سه نوع روغن از آزمون One-way ANOVA و برای مقایسه زوجی بین گروه‌ها از آزمون Tukey's Post-hoc استفاده شد. همچنین همبستگی بین غلظت آفاتوکسین B1 و G1 با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون بررسی گردید.

مقادیر  $p$  کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری آماری در نظر گرفته شد (۱۱).

## نتایج

در این پژوهش، ۵۰ نمونه روغن استحصالی به روش پرس سرد از نظر بار آلودگی به آفاتوکسین های B1 و G1 مورد آزمون قرار گرفتند. نتایج آنالیز الایزا نشان داد که نوع دانه روغنی عاملی تعیین کننده و معنادار در میزان انتقال سموم به محصول نهایی است ( $p < ۰/۰۰۱$ ).

۳-۱. توزیع و فراوانی آلودگی در نمونه ها: نتایج نشان داد که آلودگی در روغن کنجد نه تنها از نظر غلظت، بلکه از نظر فراوانی نیز در بالاترین سطح قرار دارد. در روغن کنجد، ۱۰۰٪ نمونه ها (۲۰ از ۲۰) آلودگی مثبت به AFB1 را نشان دادند که تمامی آنها فراتر از حد مجاز اتحادیه اروپا  $۲ \mu\text{g/kg}$  بودند. در روغن آفتابگردان، ۸۰٪ نمونه ها آلودگی مثبت داشتند که از این میان، ۴۰٪ فراتر از حد مجاز بودند. در روغن کلزا، تنها ۲۰٪ نمونه ها آلودگی در حد تشخیص نشان دادند و هیچ کدام از مرز استانداردهای بهداشتی عبور نکردند.

۳-۲. ارزیابی کمی آلودگی به تفکیک نوع ماتریکس: خلاصه وضعیت آلودگی نمونه ها در جدول ۱ ارائه شده است. طبق یافته ها، روغن کنجد با میانگین غلظت  $۷/۱ \pm ۶۴/۶۱ \mu\text{g/kg}$  برای آفاتوکسین B1، بالاترین سطح آلودگی را به خود اختصاص داد. این مقدار به طور فاحشی از حد مجاز سخت گیرانه اتحادیه اروپا ( $۲ \mu\text{g/kg}$ ) و حتی استانداردهای داخلی در بسیاری از موارد فراتر رفته است. در رده بعدی، روغن آفتابگردان با میانگین  $۱/۷۹ \mu\text{g/kg}$  قرار گرفت که در مرز آستانه هشدار ارزیابی شد. کمترین میزان آلودگی مربوط به روغن کلزا با میانگین  $۰/۴۱ \mu\text{g/kg}$  بود که نشان دهنده ایمنی بالای این محصول در برابر سویه های آفاتوکسین زا است.

۳-۳. تحلیل الگوی توزیع سموم: نمودار حاصل از سنجش الایزا (شکل ۱) نشان دهنده یک رابطه مستقیم و خطی بین غلظت های B1 و G1 است. نکات حائز اهمیت در این بخش، همبستگی شدید بین حضور این دو سم ( $R^2 = ۰/۸۹$ ) و غالب بودن آفاتوکسین B1 در تمامی ماتریکس های روغنی است. در روغن کنجد، میانگین غلظت AFB1 حدود ۲/۳ برابر غلظت AFG1 محاسبه شد. از آنجا که آفاتوکسین B1 به عنوان سمی ترین نوع این خانواده شناخته می شود، این نسبت بالا، پتانسیل خطرناک بودن مصرف روغن های کنجد غیراستاندارد را دوچندان می کند.

۳-۴. بررسی نرخ انتقال و حد تشخیص (LOD): تمامی نتایج با احتساب حد تشخیص دستگاه ( $\text{LOD} = ۰/۵ \mu\text{g/kg}$ ) گزارش شده اند. در حالی که ۱۰۰٪ نمونه های روغن کنجد آلودگی بالاتر از حد مجاز را نشان دادند، در روغن کلزا تمامی نمونه ها (۱۰۰٪) در محدوده کاملاً ایمن قرار داشتند. این تفاوت فاحش آماری ( $p = ۰/۰۰۱$ ) در نمودار الایزا به خوبی قابل مشاهده است و نشان می دهد که ماتریکس روغن کلزا به طور ذاتی ریسک کمتری برای میزبانی از قارچ های تولیدکننده سم دارد.

## بحث

یافته های پژوهش حاضر دریچه ای نو به چالش های ایمنی در صنعت نوپای روغن گیری به روش پرس سرد می گشاید. تفاوت معنادار بار آلودگی در روغن های کنجد، آفتابگردان و کلزا ( $p < ۰/۰۵$ ) نشان می دهد که ماتریکس دانه خام، تعیین کننده اصلی پروفایل مخاطرات شیمیایی در محصول نهایی است. غلظت بحرانی آفاتوکسین B1 در روغن کنجد ( $\mu\text{g/kg}$ )  $۷/۱ \pm ۶۴/۶۱$  که حدود ۳/۸ برابر حد مجاز اتحادیه اروپا است، با ویژگی های مرفولوژیک و بیوشیمیایی دانه کنجد ارتباط مستقیم دارد. دلیل انتخاب استاندارد EU/۲۰۲۳/۹۱۵ به عنوان مرجع مقایسه ای، رویکرد سخت گیرانه این پروتکل در راستای مدیریت

ریسک و صیانت حداکثری از سلامت مصرف‌کنندگان در برابر ترکیبات ژنوتوکسیک است. پوسته دانه کنجد نسبت به کلزا نفوذپذیری بیشتری در برابر میسلیم‌های قارچی دارد. علاوه بر این، نسبت بالای پروتئین به کربوهیدرات در کنجد، بستری غنی برای القای ژن‌های خوشه بیوستیزی آفاتوکسین *aflR* و *aflJ* فراهم می‌کند (۷). تحقیقات جدید نشان می‌دهند که حضور لیپیدهای قطبی در آندوسپرم کنجد می‌تواند به عنوان سیگنال‌های شیمیایی برای تحریک متابولیسم ثانویه آسپرژیلوس عمل کرده و سرعت بیوستز سم را در مقایسه با سایر دانه‌ها تا ۴۰٪ افزایش دهد (۸). از منظر اکولوژیک، بخش عمده کنجد مورد استفاده در واحدهای روغن‌گیری اصفهان از مناطق گرمسیری تأمین می‌شود که به دلیل رطوبت نسبی بالا در زمان انبارمانی، شرایط برای فعالیت آنزیمی *Aspergillus flavus* و ترشح توکسین به داخل آندوسپرم دانه پیش از مرحله روغن‌گیری کاملاً مهیاست (۵). نتایج این پژوهش نشان داد که روغن کنجد نه تنها از حد مجاز اتحادیه اروپا، بلکه از سقف تعیین شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵۹۲۵ یعنی  $5\mu\text{g/kg}$  نیز فراتر رفته است. میانگین غلظت  $\text{AFB1}$  در روغن کنجد، حدود ۱/۵ برابر حد مجاز داخلی است که زنگ خطری جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان محسوب می‌شود. یافته‌های این مطالعه در خصوص آلودگی بالای روغن کنجد با نتایج بهشتی و اسدی (۱۳) که به بررسی محصولات پایه کنجد در بازارهای سنتی ایران پرداخته بودند، همخوانی دارد. آن‌ها نیز گزارش کردند که به دلیل فقدان نظارت بر شرایط انبارمانی دانه‌های وارداتی در گمرکات و انبارداری سنتی، بار آلودگی در محصولات غیرتصفیه شده به طور معناداری بالاتر از حد مجاز ملی است. علاوه بر این، تطبیق نتایج ما با منبع جدید (۱۴) نشان می‌دهد که تکنیک‌های نوین غربالگری نظیر حسگرهای زیستی نیز تأیید می‌کنند که روغن‌های استحصالی

به روش مکانیکی، به دلیل عدم استفاده از خاک‌های رنگ‌بر که توانایی جذب قطبی مایکوتوکسین‌ها را دارند، همواره در معرض ریسک باقی می‌مانند. نتایج نشان داد که روغن آفتابگردان با میانگین  $1/79\mu\text{g/kg}$  در رده دوم آلودگی قرار دارد. اگرچه این میزان به طور متوسط پایین‌تر از آستانه بحرانی است، اما حضور نمونه‌هایی در مرز مجاز، نشان‌دهنده حساسیت این دانه است. بر اساس مطالعات اخیر (۹)، دانه آفتابگردان به دلیل داشتن پوسته فیبری، تا حدی در برابر نفوذ مستقیم قارچ محافظت می‌شود، اما آسیب‌های فیزیکی ناشی از حملات حشرات یا نقص در فرآیند بوجاری، مسیر نفوذ میسلیم‌های قارچی به مغز دانه را هموار می‌کند. نکته حائز اهمیت، پایداری بالای آفاتوکسین در فاز روغن آفتابگردان است؛ به دلیل ماهیت لیپوفیلیک (چربی‌دوست)، این سموم با پیوندهای واندروالسی قوی به زنجیره‌های اسید چرب متصل شده و حتی در طول انبارمانی طولانی مدت روغن نیز دچار تخریب طبیعی نمی‌شوند (۴). همچنین، محتوای بالای اسیدهای چرب غیراشباع در آفتابگردان می‌تواند در صورت اکسیداسیون اولیه، محیط را برای سنتز آفاتوکسین تحریک کند، چرا که محصولات پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان سیگنال‌های القای توکسین‌زایی عمل می‌کنند (۱). یافته‌های این پژوهش، روغن کلزا را با میانگین آلودگی بسیار ناچیز ( $0/41\mu\text{g/kg}$ ) به عنوان ایمن‌ترین گزینه معرفی کرد. این پایداری بهداشتی ناشی از دو فاکتور کلیدی است: نخست، زمان کشت و برداشت کلزا معمولاً با فصول خنک‌تر همزمان است که دمای بهینه برای رشد *Aspergillus* را فراهم نمی‌کند. دوم، طبق گزارش‌های اخیر (۱۵) وجود ترکیبات ثانویه مانند گلوکوزینولات‌ها در دانه کلزا می‌تواند خاصیت ضدقارچی داشته باشد و از تکثیر سریع قارچ‌های مایکوتوکسین‌زا جلوگیری کند. مطالعات اخیر (۱۴) تأیید کرده‌اند که ترکیب سیناپین موجود در کلزا، اثر مهارکنندگی مستقیمی بر آنزیم‌های دخیل در مسیر

دانه های اولیه و شرایط انبارداری آنها در واحدهای صنفی، امکان ردیابی دقیق منشأ آلودگی را محدود ساخت.

۳. پارامترهای فرآیندی: تفاوت در تکنولوژی دستگاه های پرس سرد (فشار و دمای کارکرد) در واحدهای مختلف می تواند بر میزان انتقال آفاتوکسین از دانه به روغن مؤثر باشد که در این مطالعه به دلیل تنوع گسترده تجهیزات صنفی، کنترل این متغیر امکان پذیر نبود.

### نتیجه گیری

این تحقیق اثبات کرد که روش پرس سرد، علیرغم حفظ ترکیبات تغذیه ای، فاقد هرگونه سد دفاعی برای کاهش آفاتوکسین هاست. برخلاف روغن های صنعتی که طی مراحل پالایش (رنگبری و بوگیری در دمای بالای  $230^{\circ}\text{C}$ ) بیش از ۹۵٪ مایکوتوکسین های خود را از دست می دهند (۱۵)، در پرس سرد، آلودگی دانه مستقیماً به سفره مصرف کننده منتقل می شود. در نهایت، با استناد به استاندارد ملی ایران شماره ۵۹۲۵، عدم پایش دقیق این محصولات می تواند منجر به انباشت سموم در کبد و بروز بیماری های مزمن در درازمدت گردد (۱۰). برای ارتقای سلامت عمومی پیشنهاد می گردد. (۱) الزام کارگاه های روغن گیری به تهیه دانه های دارای گواهی سلامت مایکوتوکسینی. (۲) استفاده از سیلوهای مجهز به سیستم کنترل اتمسفر جهت توقف فعالیت قارچی در دانه های حساسی مانند کنجد. (۳) آگاهی بخشی به جامعه در خصوص اولویت مصرف روغن کلزا در مواردی که منبع تأمین دانه نامشخص است.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با رعایت کامل موازین اخلاق در پژوهش های زیستی انجام شده است. کلیه مراحل نمونه برداری و آزمایشات بر اساس دستورالعمل های مصوب کمیته اخلاق دانشگاه آزاد

سنتر آفاتوکسین دارد. لذا، پایین بودن بار آلودگی در روغن کلزا، ناشی از مقاومت ذاتی ماتریکس دانه است. غالب بودن سوبه B1 حدود ۲/۳ در برابر G1 در تمامی نمونه های مثبت، یافته ای استراتژیک است. آفاتوکسین B1 به دلیل میل ترکیبی بالا با سیتوکروم P450 و تبدیل شدن به فرم فعال AFB1-8,9-epoxide، مستقیماً با تشکیل افزونه های DNA و القای جهش در ژن سرکوب کننده تومور p53 مرتبط است (۶). حضور همزمان AFG1 اگرچه با غلظت کمتر، اما به دلیل اثرات هم افزایی، ریسک سمیت مزمن کبدی را در مصرف کنندگان دائمی روغن های کنجد غیراستاندارد به شدت افزایش می دهد.

علیرغم یافته های حائز اهمیت در این مطالعه، پژوهش حاضر با محدودیت هایی روبرو بود که باید در مطالعات آتی مد نظر قرار گیرند:

۱. روش آنالیز آزمایشگاهی: در این تحقیق از روش الیزا به عنوان یک ابزار غربالگری معتبر و سریع استفاده شد؛ با این حال، استفاده از روش های دستگاهی پیشرفته تر نظیر HPLC یا LC-MS/MS برای تایید نهایی نمونه های مثبت و تعیین دقیق تر غلظت های بسیار پایین می توانست بر دقت یافته ها بیفزاید.

۲. حجم نمونه و بازه زمانی: به دلیل هزینه های بالای تهیه کیت های اختصاصی و ماهیت منطقه ای مطالعه، حجم نمونه به ۵۰ مورد محدود گردید. همچنین، از آنجایی که این پژوهش در فصل تابستان انجام شد، تأثیر نوسانات فصلی (دما و رطوبت) بر میزان آلودگی بررسی نگردید. انجام پایش های دوره ای در فصول مختلف سال برای دستیابی به یک الگوی جامع آلودگی ضروری به نظر می رسد.

۳. منشأ آلودگی: تمرکز این پژوهش صرفاً بر محصول نهایی (روغن) بود. عدم دسترسی به داده های مربوط به سلامت

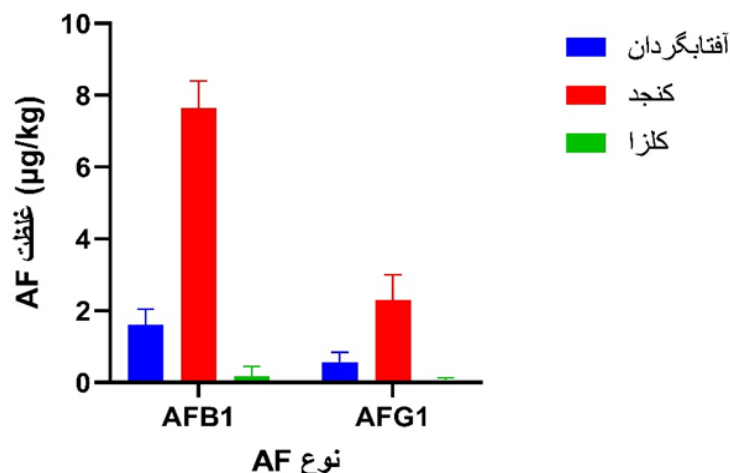
IR.IAU.SHK.REC.1404.313 می‌باشد. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد و مدیریت آزمایشگاه مرکزی بابت همکاری در فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی و تجهیزات لازم جهت انجام این پژوهش صمیمانه تقدیر و تشکر نمایند. همچنین از تمامی متصدیان واحدهای روغن‌گیری که در مرحله نمونه‌برداری با سعه‌صدر همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌گردد.

اسلامی واحد شهرکرد صورت گرفته است. همچنین، نویسندگان متعهد شده‌اند که نتایج پژوهش را بدون سوگیری و با امانت‌داری کامل گزارش نمایند. هیچ‌گونه نام یا مشخصاتی از واحدهای صنفی مورد مطالعه در گزارش نهایی منتشر نشده و داده‌ها صرفاً جهت ارتقای سلامت جامعه و اهداف علمی تحلیل شده‌اند. این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد بوده و دارای تاییدیه اخلاقی به شماره

**جدول ۱-** مقایسه میانگین غلظت آفلاتوکسین‌های B1 و G1 ( $\mu\text{g/kg}$ ) و انطباق با حدود مجاز در مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای آلودگی به آفلاتوکسین‌های B1 و G1 در روغن‌های کنجد، آفتابگردان و کلزای استحصالی به روش پرس سرد در اصفهان

| نوع روغن   | تعداد | AFB1<br>(میانگین $\pm$<br>انحراف معیار) | AFG1<br>(میانگین $\pm$<br>انحراف معیار) | (B1+G1) | دامنه تغییرات<br>(کمینه-بیشینه) | انطباق با استاندارد<br>ایران ( $\mu\text{g/kg}$ ) | انطباق با استاندارد<br>اروپا ( $\mu\text{g/kg}$ ) | درصد فراتر<br>از حد<br>مجاز<br>(EU) |
|------------|-------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|---------|---------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------|
| کنجد       | ۲۰    | $7/1 \pm 64/61^a$                       | $2/0 \pm 28/45$                         | ۹/۹۲    | ۵/۱۱-۱۰/۲۰                      | عدم انطباق                                        | عدم انطباق                                        | ٪۱۰۰                                |
| آفتابگردان | ۱۵    | $1/0 \pm 79/32^b$                       | $0/0 \pm 54/11$                         | ۲/۳۳    | ۰/۲-۸۰/۹۰                       | انطباق                                            | انطباق (در مرز<br>خطر)                            | ٪۴۰                                 |
| کلزا       | ۱۵    | $0/0 \pm 41/08^b$                       | $0/0 \pm 12/03$                         | ۰/۵۳    | ND-۰/۷۵                         | انطباق                                            | انطباق کامل                                       | ٪۰                                  |

\*حروف متفاوت (a, b) در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار در سطح ۵٪ است. ND: غیرقابل تشخیص



**شکل ۱-** نمودار ستونی مقایسه‌ای غلظت سموم در سه روغن آفتابگردان، کنجد، کلزا در مطالعه ارزیابی مقایسه‌ای آلودگی به آفلاتوکسین‌های B1 و G1 در روغن‌های کنجد، آفتابگردان و کلزای استحصالی به روش پرس سرد در اصفهان



## References

1. Wang HB, Mo ZM, Yuan GW, Dai XD Zhou SY, Khoo HE, et al. Degradation of Aflatoxin B1 in Peanut Oil by Ultraviolet-LED Cold-Light Irradiation and Structure Elucidation of the Degradation Products. *Journal of Oleo Science*. 2023; 72(4): 473-80.
2. Qi N, Yu H, Yang C, Gong X, Liu Y, Zhu Y. Aflatoxin B<sub>1</sub> in peanut oil from Western Guangdong, China, during 2016-2017. *Food Additives and Contaminants: Part B Surveill*. 2019; 12(1): 45-51.
3. Sadighara P, Ghanati K. The aflatoxin B1 content of peanut-based foods in Iran: a systematic review. *Reviews on Environmental Health*. 2022; 37(1): 29-33.
4. Mazaheri Y, Shavali-Gilani P, Shariatifar N, Bakhtiyari A, Hadian Z, Akbari N, et al. Effectiveness of various methods to reduce aflatoxin M1 levels in milk, a systematic review. *Food Chemistry: X*. 2024; 23: 101737.
5. Gouran ST, Doosti A, Jami MS. Brucella abortus antigen omp25 vaccines: Development and targeting based on Lactococcus lactis. *Veterinary Medicine and Science*. 2023; 9(4):1908-22.
6. Kheiri F, Faghani M, Berenjagani MM, Gouran ST, Domakani MR. Polymorphism of the Gonadotropin-Releasing Hormone Receptor Gene and Its Association With Production Traits in Isfahani Native Hens. *Veterinary Medicine and Science*. 2026; 12(4): e70969.
7. Geleta GS, Nugussa A, Faye G, Ragassa G. Assessment of Human Health Risks from Aflatoxin M1 in Raw Milk: A Study from North Shewa Zone, Oromia Region, Ethiopia. *Environmental Health Insights*. 2024;18:11786302241304524.
8. Rahmani J, Alipour S, Miri A, Fakhri Y, Riahi SM, Keramati H, et al. The prevalence of aflatoxin M1 in milk of Middle East region: A systematic review, meta-analysis and probabilistic health risk assessment. *Food and chemical toxicology*. 2018; 118: 653-66.
9. Khaneghahi Abyaneh H, Bahonar A, Noori N, Yazdanpanah H, Shojaee Aliabadi MH. Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and UHT milk marketed in Iran. *Food additives and contaminants: part B*. 2019; 12(4): 236-244.
10. Mohammadzadeh M, Mirzaei N, Mostafaei G, Atoof F, Miranzadeh MB, Dehghani R. Determination of potentially toxic metals in depilatory products in the Iranian markets: human health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*. 2022; 29(9):13756-65.
11. Zheng N, Min L, Li D, Tan S, Gao Y, Wang J. Occurrence of Aflatoxin M1 in Cow, Goat, Buffalo, Camel, and Yak Milk in China in 2016. *Toxins*. 2022; 14(12): 870.
12. Peloso M, Minkoumba Sonfack G, Paduano S, De Martino M, De Santis B, Caprai E. Pyrrolizidine Alkaloids in Food on the Italian Market. *Molecules*. 2023; 28(14): 5346.
13. Behtarin P, Movassaghghazani M. Aflatoxin M<sub>1</sub> level and risk assessment in milk, yogurt, and cheese in Tabriz, Iran. *Toxicon*. 2024; 250: 108119.
14. Moradkhani F, Sekhavatizadeh SS, Marhamatizadeh MH, Ghasemi M. Biodetoxification of Aflatoxin M1 in Artificially Contaminated Fermented Milk, Fermented Dairy Drink and Yogurt Using Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus reuteri, and Lactobacillus rhamnosus and Its Effects on Physicochemical Properties. *Food Science and Nutrition*. 2025; 13(4): e70175.
15. Makhdoumi P, Hossini H, Mohammadi R, Limoe M. The prevalence of aflatoxin M1 (AFM1) in conventional and industrial dairy products (yogurt, cheese, kashk and dough) of Iran: a systematic review and meta-analysis. *Reviews on environmental health*. 2021; 37(1): 123-135.

## Comparative Evaluation of *B1* and *G1* Aflatoxins Contamination in Cold-Pressed Sesame, Sunflower, and Rapeseed Oils in Isfahan

Ghasem Amini-Khoei<sup>1</sup>, Najmeh Vahed-Dehkordi<sup>2\*</sup>, Ebrahim Rahimi<sup>3</sup>

1. MS.c. Department of Food Hygiene, Shk.C., Islamic Azad University, ShahreKord, Iran

2. Ph.D. Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Shk.C., Islamic Azad University, ShahreKord, Iran

3. Ph.D. Professor, Research Center of Nutrition and Organic Products, Shk.C., Islamic Azad University, ShahreKord, Iran

\*Corresponding Author: najmeh.vaheddehkordi@iau.ir

Received: Nov 26, 2025

Accepted: Dec 21, 2025

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Despite the nutritional benefits of cold-pressed oils, the expansion of cold-pressed oil production has introduced new challenges in food safety. Aflatoxins, recognized as proven carcinogens, exhibit considerable stability in unrefined oils. This study aimed to comparatively evaluate the concentrations of aflatoxins B1 (AFB1) and G1 (AFG1) in cold-pressed sesame, sunflower, and rapeseed oils marketed in Isfahan, Iran.

**Materials and Methods:** In this descriptive-analytical study, 50 oil samples, including 20 sesames, 15 sunflowers, and 15 rapeseed oil samples, were randomly collected. Aflatoxin concentrations were determined using a competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with commercial kits having a detection limit of 0.5 µg/kg. Optical density was measured at 450 nm, and the data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc test in SPSS version 26.

**Results:** The results demonstrated a significant and uneven distribution of aflatoxin contamination among different oil types ( $p < 0.05$ ). Sesame oil exhibited the highest contamination level, with a mean AFB1 concentration of  $7.64 \pm 1.61$  µg/kg, and all samples (100%) exceeded the European Union maximum permissible limit (2 µg/kg). Sunflower oil showed a mean AFB1 concentration of 1.79 µg/kg and was classified as having a moderate risk level, approaching the critical threshold. In contrast, rapeseed oil exhibited the lowest contamination level, with a mean concentration of 0.41 µg/kg. Moreover, in all positive samples, the mean concentration of AFB1 was estimated to be 3.2-fold higher than that of AFG1, indicating the predominance of this toxin.

**Conclusion:** The findings indicate that the cold-pressing process is unable to eliminate aflatoxins originating from contaminated raw seeds. Considering the critical contamination levels detected in sesame oil, continuous monitoring of raw seed quality and raising consumer awareness regarding the selection of lower-risk oils, such as rapeseed oil, are essential measures for safeguarding public health.

**Keywords:** Aflatoxin, Cold-Pressed Oil, Sesame Oil, ELISA, Food Safety

Copyright © 2025 Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.