

## Investigation and Comparison of the Amount of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Bulk and Packaged Black Pepper

Reza Rezaee<sup>1</sup>, Shadieh Mohammadi<sup>2, 2</sup>, Esmail Ghahremani<sup>3</sup>, Shiva Zandi<sup>4</sup>, Homaila Orami<sup>5</sup>, Galavizh Mandomi<sup>6, 1</sup>

1.Associate Professor of Environmental Health Engineering, Environmental Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000 -0003 -2314 -6697

2.Assistant Professor of Food Hygiene, Environmental Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran (Second Corresponding Author). ORCID ID: 0000 -0002 -0711 -4305

3.Assistant Professor of Environmental Health Engineering, Environmental Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000 -0003 -4976 -1233

4.Laboratory expert, MSc of Chemistry, Environmental Health Research Center, Research Institute for Health Development, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000 -0001 -8349 -5595

5.BSc of Environmental Health Engineering, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0009-0001-4396-7444

6.MSc Student of Environmental Health Engineering, Student Research Committee, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran., (First Corresponding Author), Tel: 087 -33664645, Email: g.mandomi13@gmail.com. ORCID ID: 0009-0001-3915-2381

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Aflatoxins are secondary metabolites of a group of filamentous fungi that are produced in most foods, including cereals, dairy products, nuts, and spices, under favorable environmental conditions. The aim of this study was to determine and compare the amount of aflatoxin B<sub>1</sub> in bulk and packaged black pepper in Sanandaj city.

**Materials and Methods:** The present study was a cross-sectional analysis of 15 samples of bulk black pepper sold in the traditional market of Sanandaj city and 5 samples of this product in packaged form belonging to 5 reputable brands, which were collected and tested in a simple random manner. The ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) method was used to analyze the samples. Data analysis was performed using SPSS software and the ANOVA statistical test.

**Results:** Aflatoxin B<sub>1</sub> was found in all samples, and its concentration was determined in the range of 0.003 to 1.958 µg/kg. The mean concentration of aflatoxin B<sub>1</sub> in bulk powdered samples was significantly higher than that in whole bulk samples, but there was no significant difference between the mean concentration of aflatoxin B<sub>1</sub> in bulk and packaged black pepper. However, the concentration of aflatoxin B<sub>1</sub> in none of the samples exceeded the permissible limit of the European Union standard and the Iranian national standard (5 µg/kg).

**Conclusion:** Given the presence of aflatoxin B<sub>1</sub> in black pepper samples and the relatively high consumption of this spice, it is recommended to regularly monitor the processing and storage of this product.

**Keywords:** Aflatoxin B<sub>1</sub>, Aspergillus fungus, Piper nigrum, ELISA

**Received:** Dec 20, 2024

**Accepted:** June 9, 2025

**How to cite the article:** Reza Rezaee, Shadieh Mohammadi, Esmail Ghahremani, Shiva Zandi, Homaila Orami, Galavizh Mandomi. Investigation and Comparison of the Amount of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Bulk and Packaged Black Pepper. SJKU 2025;30(3):1-12.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## بررسی و مقایسه میزان آفاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل سیاه فله‌ای و بسته بندی

- رضا رضایی<sup>۱</sup>، شادیه محمدی<sup>۲</sup>، اسمعیل قهرمانی<sup>۳</sup>، شیوا زندی<sup>۴</sup>، همیلا اورامی<sup>۵</sup>، گلاویژ مندمی<sup>۶</sup>
۱. دانشیار مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۶۶۹۷-۲۳۱۴-۰۰۰۳-۰۰۰۰
۲. استادیار بهداشت مواد غذایی، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (نویسنده مسئول دوم). تلفن ثابت: ۳۳۶۶۴۶۴۵-۰۸۷، پست الکترونیک: shadieh Mohammadi@yahoo.com. کد ارکید: ۴۳۰۵-۰۷۱۱-۰۰۰۲-۰۰۰۰-۰۰۰۲
۳. استادیار مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۳-۰۰۰۰-۴۹۷۶-۱۲۳۳
۴. کارشناس آزمایشگاه، کارشناسی ارشد شیمی، مرکز تحقیقات بهداشت محیط، پژوهشکده توسعه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۸۳۴۹-۵۵۹۵
۵. کارشناسی مهندسی بهداشت محیط، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۴۳۹۶-۷۴۴۴-۰۰۰۱-۰۰۰۹
۶. دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (نویسنده مسئول اول)، تلفن ثابت: ۳۳۶۶۴۶۴۵-۰۸۷، پست الکترونیک: g.mandomi13@gmail.com، کد ارکید: ۳۹۱۵-۲۳۸۱-۰۰۰۹-۰۰۰۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** آفاتوکسین‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه گروهی از قارچ‌های رشته‌ای هستند که در شرایط مساعد محیطی، در بیشتر مواد غذایی از جمله غلات، فرآورده‌های لبنی، انواع مغزها و ادویه‌جات تولید می‌گردند. هدف از این پژوهش تعیین و مقایسه میزان آفاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل سیاه فله‌ای و بسته‌بندی در شهر سنندج می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** پژوهش حاضر به صورت تحلیلی-مقطعی بر روی ۱۵ نمونه فلفل سیاه فله عرضه شده در بازار سنتی شهر سنندج و ۵ نمونه این محصول به صورت بسته‌بندی متعلق به ۵ برند تجاری معتبر به صورت تصادفی ساده جمع‌آوری و آزمایش گردید. جهت آنالیز نمونه‌ها از روش الایزا (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری ANOVA انجام گرفت.

**یافته‌ها:** آفاتوکسین B<sub>1</sub> در تمامی نمونه‌ها یافت شد و غلظت آن در محدوده ۰/۰۳۳ تا ۱/۹۵۸ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین گردید. میانگین غلظت آفاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فله‌ای پودری به طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های فله‌ای درسته بود اما تفاوت معنی‌داری بین میانگین غلظت آفاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل سیاه فله‌ای و بسته‌بندی شده وجود نداشت. با این حال، غلظت آفاتوکسین B<sub>1</sub> در هیچ‌یک از نمونه‌ها از حد مجاز استاندارد اتحادیه اروپا و استاندارد ملی ایران (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) فراتر نبود.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به وجود آفاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فلفل سیاه و مصرف نسبتاً زیاد این ادویه توصیه می‌گردد نظارت منظم بر روی فرآوری و نگهداری این محصول انجام گردد.

**کلمات کلیدی:** آفاتوکسین B<sub>1</sub>، قارچ اسپرژیلوس، فلفل سیاه، الایزا

وصول مقاله: ۱۴۰۳/۹/۳۰ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۴/۳/۳ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۱۹

## مقدمه

مایکوتوکسین‌ها، سموم طبیعی هستند که به‌عنوان متابولیت ثانویه توسط چندین گونه قارچ تولید می‌شوند (۱). آفلاتوکسین‌ها سمی‌ترین گروه مایکوتوکسین‌ها هستند که توسط برخی از گونه‌های قارچ آسپرژیلوس (آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس نومیوس) تولید می‌شوند (۲). آفلاتوکسین‌ها که شامل چهار نوع  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $G_1$  و  $G_2$  هستند به‌عنوان آلودگی موجود در بیشتر اقلام مواد غذایی از جمله غلات، بادام‌زمینی، ذرت، محصولات گوشتی، فرآورده‌های لبنی، انواع مغزها، خوراک دام و ادویه‌جات شناخته شده‌اند (۳-۵). آفلاتوکسین  $B_1$  قوی‌ترین آفلاتوکسین جهش‌زا، سرطان‌زا، تراژونیک، هیپاتوتوکسیک و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است که بیشترین شیوع را در مواد غذایی دارد و به‌عنوان آلاینده اصلی مایکوتوکسین ادویه‌جات شناخته شده است (۶-۸). از سال ۱۹۹۳، آفلاتوکسین  $B_1$  توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) به‌عنوان سرطان‌زای گروه ۱ طبقه‌بندی گردیده است (۸).

این ماده سرطان‌زا، مواد غذایی را در طی مراحل تولید، عرضه و نگهداری تا انقضای مصرف به دلیل شرایط نامناسب محیطی شامل دما و رطوبت بالا، عدم رعایت اصول بهداشتی و طولانی بودن مدت‌زمان نگهداری آلوده می‌کند به همین جهت میزان بروز آلودگی آفلاتوکسین  $B_1$  در ادویه‌جات که در مناطق گرمسیری و مرطوب تولید می‌شوند و بستر مناسبی برای رشد قارچ در آن‌ها فراهم است، بسیار زیاد است (۹-۱۱). از میان انواع مختلف ادویه‌جات، فلفل سیاه مهم‌ترین، پرمصرف‌ترین و یکی از گران‌بهاترین ادویه‌ها در جهان است (۱۲). فلفل سیاه معمولاً به‌صورت خام و یا بدون پردازش به همراه غذاهای آماده مصرف می‌شود. به همین جهت رشد قارچ و تولید مایکوتوکسین در آن می‌تواند اثرات نامطلوبی بر سلامتی انسان ایجاد نماید (۱۳). حد مجاز آفلاتوکسین  $B_1$  در ادویه‌جات توسط استاندارد

اتحادیه اروپا و استاندارد ملی ایران ۵ میکروگرم بر کیلوگرم تعیین شده است (۱۴، ۱۵).

بر این اساس، بررسی میزان آفلاتوکسین  $B_1$  موجود در فلفل سیاه به‌منظور اطلاع از ارزیابی خطر برای تخمین مصرف آن بسیار مهم می‌باشد و در سال‌های اخیر مطالعات مختلفی در این زمینه انجام گردیده است (۱۰). Barani و همکاران در مطالعه خود میزان آفلاتوکسین  $B_1$  را در فلفل‌های تجاری ایران بررسی و در نتایج خود ۵ نمونه از ۴۰ نمونه فلفل سیاه ارزیابی‌شده را آلوده گزارش نمودند (۱۶). در پژوهشی مشابه در مراکش، Zinedine و همکاران شیوع آفلاتوکسین  $B_1$  و کل آفلاتوکسین‌ها در فلفل سیاه را به ترتیب ۴۷ و ۹۳ درصد گزارش نمودند (۱۷).

معمول‌ترین روش‌های استاندارد برای سنجش میزان آفلاتوکسین  $B_1$  در ادویه‌جات شامل کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و آزمون الایزا (ELISA) می‌باشد (۱۸). امروزه، کاربرد روش الایزا نسبت به سایر روش‌ها بیشتر است چراکه یک روش سریع، حساس، مقرون‌به‌صرفه و آسان می‌باشد (۱۹).

با توجه به شرایط نامناسب نگهداری، حمل‌ونقل، انبار و عرضه ادویه‌جات فله‌ای در شهر سنندج و عدم وجود اطلاعات کافی در مورد نظارت و کنترل دقیق بر روی سلامت و بهداشت آن‌ها، ضرورت انجام این تحقیق باهدف تعیین و مقایسه میزان آفلاتوکسین  $B_1$  در فلفل سیاه فله‌ای و بسته‌بندی‌شده شهر سنندج در سال ۱۴۰۱ تشخیص داده شد. با بررسی صورت گرفته مشخص گردید تاکنون مطالعه‌ای در خصوص میزان آفلاتوکسین  $B_1$  در فلفل سیاه عرضه‌شده در شهر سنندج انجام نشده و یا نتایج آن منتشر نگردیده است. لذا هدف از این پژوهش تعیین و مقایسه میزان آفلاتوکسین  $B_1$  در فلفل سیاه فله‌ای و بسته‌بندی در شهر سنندج در سال ۱۴۰۱ می‌باشد.

**مواد و روش‌ها****جمع‌آوری نمونه‌ها**

پژوهش حاضر به صورت تحلیلی-مقطعی در بهار سال ۱۴۰۱ به منظور اندازه‌گیری آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فلفل سیاه فله و بسته‌بندی شده شهر سنندج انجام شد. بدین منظور تعداد ۱۵ نمونه فلفل سیاه فله‌ای به تفکیک نوع عرضه شامل ۱۰ نمونه آسیاب شده و ۵ نمونه آسیاب نشده از ۱۵ فروشنده عمده در بازار سنتی شهر سنندج و ۵ نمونه فلفل سیاه بسته‌بندی شده متعلق به ۵ برند تجاری معتبر از فروشگاه‌های عرضه‌کننده مواد غذایی به روش تصادفی ساده انتخاب و خریداری گردید. از آنجایی که فلفل سیاه فله‌ای آسیاب شده نسبت به آسیاب نشده و بسته‌بندی بیشتر توسط عموم جامعه مورد استفاده قرار می‌گیرد، تعداد نمونه‌های فلفل سیاه فله‌ای پودری نسبت به نمونه‌های فله‌ای درسته و نمونه‌های بسته‌بندی شده دو برابر در نظر گرفته شد. به منظور انجام نمونه‌برداری، معیارهای ورود و خروج نمونه‌ها به دقت تعیین گردید. معیار ورود نمونه‌های فلفل سیاه فله‌ای شامل عرضه در بازار سنتی شهر سنندج، در دو شکل آسیاب شده (پودری) و آسیاب نشده (به صورت دانه‌ای و درسته) و در دسترس بودن فروشنده عمده و امکان خرید مستقیم از وی بود. در خصوص نمونه‌های فلفل سیاه بسته‌بندی شده، نمونه‌هایی وارد مطالعه شدند که دارای بسته‌بندی سالم و غیرمخدوش، برچسب مشخصات کامل شامل نام برند، تاریخ تولید و انقضا بودند و از میان برندهای معتبر و پرمصرف در فروشگاه‌های مجاز عرضه مواد غذایی در سطح شهر سنندج انتخاب شدند. در مقابل، نمونه‌های فلفل سیاه فله‌ای که دارای ظاهر غیرعادی، آثار کپک‌زدگی یا آلودگی ظاهری قابل مشاهده بودند، و نیز نمونه‌های بسته‌بندی شده‌ای که بسته‌بندی آسیب‌دیده و مخدوش داشتند یا فاقد برچسب مشخصات و تاریخ مصرف معتبر بودند، از مطالعه خارج گردیدند. نمونه‌ها پس از خریداری به آزمایشگاه انتقال داده شده و به منظور جلوگیری از

آلودگی قارچی، در دمای ۶-۴ درجه سلسیوس در کیسه پلاستیکی تا هنگام تجزیه و تحلیل نگهداری شدند.

**آماده‌سازی نمونه‌ها**

ابتدا نمونه‌های آسیاب نشده توسط خردکن آسیاب گردید سپس ۱۰ گرم از هر نمونه را وزن کرده و ۵۰ میلی‌لیتر متانول ۳۳٪ به آن اضافه شد. ترکیب حاصل به مدت ۲ دقیقه به صورت دستی تکان داده شد. عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی پالایه شده و سپس با متانول خالص به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق گردید (۲۰).

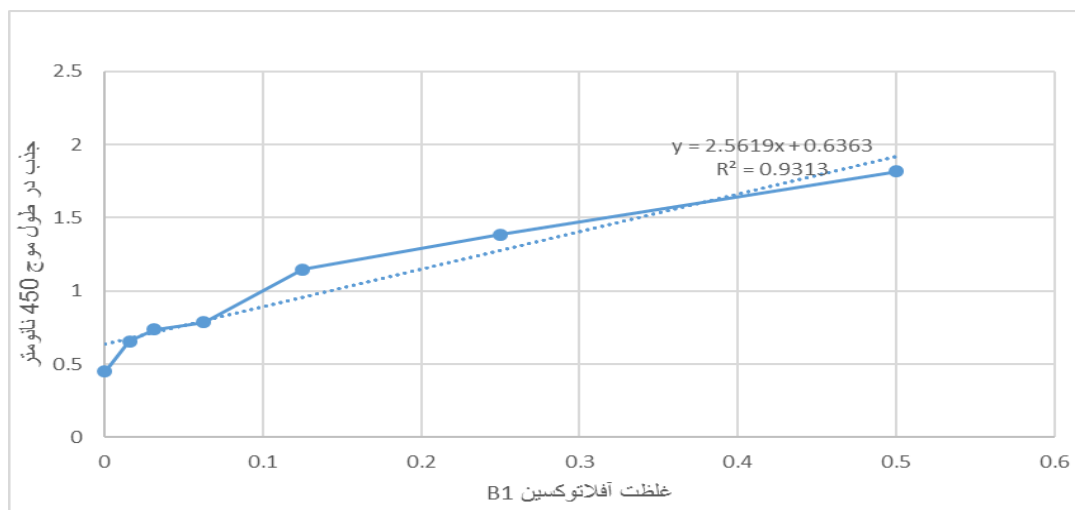
**تست آزمون الایزا**

جهت آنالیز آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌ها از کیت تست ELISA ساخت شرکت EuroProxima (کشور هلند) مدل Aflatoxin B<sub>1</sub> Sensitive (5121AFBs) استفاده شد. این کیت دارای یک صفحه میکروتیتر با ۹۶ چاهک می‌باشد که با توجه به تعداد نمونه‌ها و تکرارها، ۴۸ چاهک مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس اطلاعات شرکت سازنده، این کیت قابلیت تشخیص آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را در غلات، مغزها، خوراکی، غذای نوزاد، کبد و فلفل قرمز دارد. ویژگی اختصاصی (Specificity) این کیت براساس واکنش متقاطع با سایر انواع آفلاتوکسین به شرح زیر گزارش شده است: B<sub>1</sub> (100%)، B<sub>2</sub> (20%)، G<sub>1</sub> (17%) و G<sub>2</sub> (4%). این مقادیر بیانگر حساسیت و تمایز نسبی کیت نسبت به آنالوگ‌های ساختاری آفلاتوکسین‌ها است. میزان حساسیت کیت در حد نانوگرم بوده و محدوده تشخیص (LOD) آن برای فلفل قرمز ۰.۵ نانوگرم در میلی-لیتر می‌باشد. با توجه به شباهت ساختاری و ترکیب ماتریسی فلفل سیاه و فلفل قرمز، این مقدار به عنوان حد تشخیص قابل قبول برای فلفل سیاه نیز در نظر گرفته شد. در نهایت، قرائت نتایج بر اساس جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر انجام گردید.

آنالیز کلیه نمونه‌ها مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت با دو بار تکرار انجام گرفت (۲۱). ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر به چاهک شاهد، ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های

کروموزن اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن ۵۰ میکرولیتر محلول سولفوریک اسید ( $H_2SO_4$  یک نرمال) به هر چاهک اضافه کرده و به آرامی با تکان دادن صفحه میکروپلیت مخلوط شد. در نهایت، جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه Multi-mode reader مدل Synergy-HTX اندازه‌گیری گردید. بر اساس غلظت آفلاتوکسین  $B_1$  در نمونه‌های استاندارد و درصد جذب آن‌ها منحنی کالیبراسیون رسم گردید (شکل ۱). سپس بر اساس میزان جذب نمونه‌ها و انطباق آن با منحنی کالیبراسیون غلظت آفلاتوکسین  $B_1$  در نمونه‌ها به دست آمد.

استاندارد به چاهک‌های مربوطه و سپس ۵۰ میکرولیتر از نمونه‌های آماده شده در دو نسخه به چاهک‌های پلیت میکروپلیت اضافه شد. پس از آن ۵۰ میکرولیتر آنزیم کونژوگه و ۱۰۰ میکرولیتر محلول آنتی‌بادی ضد آفلاتوکسین  $B_1$  به همی چاهک‌ها به غیر از چاهک شاهد اضافه و سپس به آرامی با تکان دادن صفحه میکروپلیت مخلوط شد. بعد از آن به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۰-۲۵ درجه سلسیوس) و محیط تاریک نگهداری گردید. سپس صفحه میکروپلیت را روی چند برگ دستمال کاغذی واژگون کرده تا محتویات آن تخلیه شود. بعد از آن چاهک‌ها توسط بافر شستشو ۴ بار شستشو داده شدند. پس از مرحله شستشو به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر محلول



شکل ۱. منحنی کالیبراسیون کیت ELISA برای سنجش غلظت آفلاتوکسین  $B_1$ . محور افقی نشان‌دهنده غلظت و محور عمودی میزان جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر است.

### یافته‌ها

نتایج غلظت آفلاتوکسین  $B_1$  در نمونه‌های فلفل سیاه فله‌ای پودری، فله‌ای درسته و بسته‌بندی‌شده در جدول ۱ ارائه گردیده است. همانطوریکه ملاحظه می‌گردد، آفلاتوکسین  $B_1$  در همه نمونه‌های آزمایش‌شده اعم از فله و بسته‌بندی یافت شد و غلظت آن از ۰/۰۰۳ تا ۱/۹۵۸ میکروگرم بر کیلوگرم متغیر بود.

### آنالیز داده‌ها

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری IBM SPSS نسخه ۲۶، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت مقایسه غلظت آفلاتوکسین  $B_1$  در سه گروه نمونه از آزمون ANOVA استفاده گردید.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.

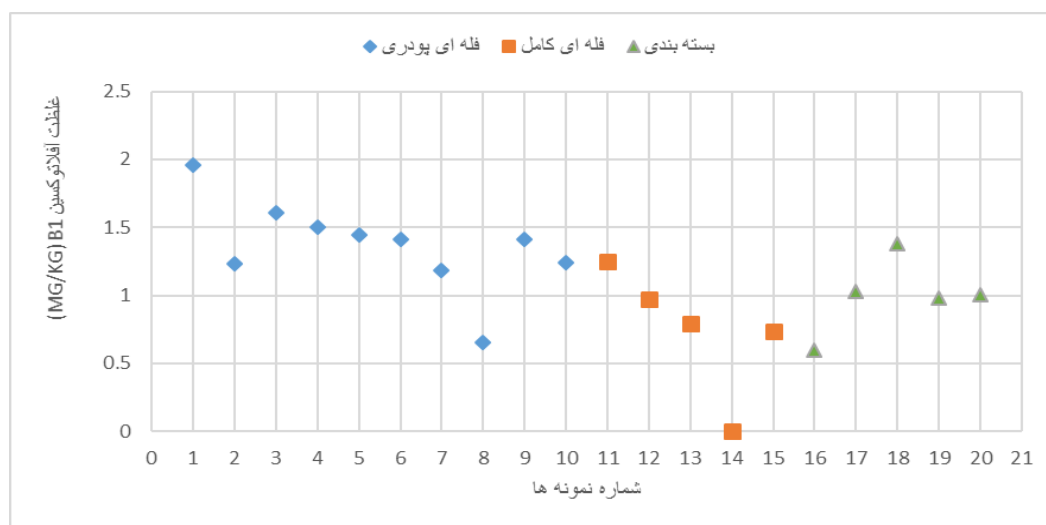
جدول ۱. میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فلفل سیاه شهر سنج

نوع ادویه	تعداد نمونه	کمینه (µg/kg)	بیشینه (µg/kg)	میانگین ± خطای استاندارد*	تجاوز از حد استاندارد**
فلفل سیاه فله‌ای پودری	۱۰	۰/۶۵۰	۱/۹۵۸	۱/۳۶۴ ± ۰/۱۰۶	۰
فلفل سیاه فله‌ای درسته	۵	۰/۰۰۳	۱/۲۴۹	۰/۷۵۰ ± ۰/۲۰۷	۰
فلفل سیاه بسته‌بندی شده	۵	۰/۵۹۶	۱/۳۷۷	۰/۹۹۸ ± ۰/۱۲۳	۰
مجموع	۲۰	۰/۰۰۳	۱/۹۵۸	۱/۱۱۹ ± ۰/۴۳۱	۰

میانگین ± خطای استاندارد بیانگر تفاوت معنی‌دار از نظر آماری است. \*\* حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد اتحادیه اروپا و استاندارد ملی ایران برای آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در ادویه‌جات ۵ میکروگرم بر کیلوگرم است.

نتایج مقایسه غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در سه گروه نمونه در شکل ۲ ارائه گردیده است. به‌منظور بررسی تفاوت میانگین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فلفل سیاه شامل فلفل سیاه فله‌ای پودری، فله‌ای درسته و بسته‌بندی شده، آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) در سطح معناداری ۰/۰۵ انجام گرفت. در ابتدا، برای بررسی فرض همگنی واریانس‌ها، آزمون لون (Levene's test)

مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این آزمون نشان داد که مقدار سطح معناداری برای تمامی حالت‌ها (بر اساس میانگین، میانه و میانگین بریده) بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بود (P > ۰/۰۵). بنابراین، فرض برابری واریانس‌ها در سه گروه مورد مطالعه تأیید گردید و انجام آزمون ANOVA بلا مانع بود.



شکل ۲. مقایسه غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فلفل سیاه فله‌ای پودری، فله‌ای درسته و بسته‌بندی شده

B<sub>1</sub> بین این سه گروه فلفل سیاه وجود دارد. به بیان دیگر، نوع فلفل (فله‌ای پودری، فله‌ای درسته و بسته‌بندی شده) بر میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌ها تأثیر معناداری داشته است.

نتایج حاصل از آزمون ANOVA در جدول ۲ نشان داده شده است. مقایسه میانگین غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بین سه گروه نمونه‌های فله‌ای پودری، فله‌ای درسته و بسته‌بندی شده نشان داد که تفاوت معناداری در میانگین میزان آفلاتوکسین

جدول ۲: نتایج آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) برای مقایسه میانگین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در سه گروه فلفل سیاه

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجات آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	سطح معناداری
بین گروه‌ها	۱/۳۵۴	۲	۰/۶۷۷	۵/۲۷۸	۰/۰۱۶
درون گروه‌ها	۲/۱۸۰	۱۷	۰/۱۲۸		
کل	۳/۵۳۴	۱۹			

مقایسه‌ها (فلفل سیاه فله‌ای پودری با بسته‌بندی شده، فلفل سیاه فله‌ای درسته با بسته‌بندی شده) از نظر آماری معنادار نبودند ( $P > 0/05$ ). به عبارت دیگر، بین نمونه‌های بسته‌بندی شده و نمونه‌های فله‌ای اعم از پودری ( $P = 0/179$ ) و درسته ( $P = 0/531$ ) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت؛ بنابراین، میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> تحت تأثیر بسته‌بندی نمونه‌ها قرار نگرفت.

با توجه به معنادار بودن آزمون ANOVA، به منظور مشخص نمودن گروه‌های دارای تفاوت معنادار، آزمون تعقیبی Tukey HSD انجام گرفت. نتایج حاصل از آزمون Tukey در جدول ۳ ارائه شده است. بر اساس نتایج این آزمون، میانگین غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل سیاه فله‌ای پودری به طور معناداری بیشتر از فلفل سیاه فله‌ای درسته بود ( $P = 0/016$ ) که می‌تواند به دلیل سطح بیشتر و در دسترس بودن مواد مغذی در ادویه‌های آسیاب شده باشد، اما سایر

جدول ۳: نتایج آزمون تعقیبی Tukey HSD برای مقایسه میانگین میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در سه گروه فلفل سیاه به صورت دو به دو.

گروه (I)	گروه (J)	اختلاف میانگین (I-J)	خطای استاندارد	سطح معناداری	حد پایین بازه	حد بالای بازه
فله‌ای پودری	فله‌ای درسته	۰/۶۱۳۹*	۰/۱۹۶۲	۰/۰۱۶	۰/۱۱۰۶	۱/۱۱۷۱
فله‌ای پودری	بسته‌بندی شده	۰/۳۶۶۲	۰/۱۹۶۲	۰/۱۷۹	-۰/۱۳۷۱	۰/۸۶۹۴
فله‌ای درسته	فله‌ای پودری	-۰/۶۱۳۹*	۰/۱۹۶۲	۰/۰۱۶	-۱/۱۱۷۱	-۰/۱۱۰۶
فله‌ای درسته	بسته‌بندی شده	-۰/۲۴۷۷	۰/۲۲۶۵	۰/۵۳۱	-۰/۸۲۸۸	۰/۳۳۳۴
بسته‌بندی شده	فله‌ای پودری	-۰/۳۶۶۲	۰/۱۹۶۲	۰/۱۷۹	-۰/۸۶۹۴	۰/۱۳۷۱
بسته‌بندی شده	فله‌ای درسته	۰/۲۴۷۷	۰/۲۲۶۵	۰/۵۳۱	-۰/۳۳۳۴	۰/۸۲۸۸

اختلاف میانگین در سطح ۰/۰۵ معنادار است.

## بحث

این مواد شیمیایی سمی یک چالش برای ایمنی مواد غذایی و همچنین عامل ایجاد خسارت‌های عظیم اقتصادی به سازمان کشاورزی هستند (۲۲). تعیین کمیت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل سیاه به دلیل استفاده گسترده در آشپزی و در نتیجه مصرف آن توسط مصرف‌کنندگان بسیار مهم است (۲۳). در مطالعات مشابه انجام شده در این خصوص، موارد زیادی از آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و کل آفلاتوکسین‌ها در فلفل سیاه گزارش گردیده است (جدول ۴). ولیکن همانطوریکه مشهود است در اکثر نتایج حاصل از این

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، وجود آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در تمامی نمونه‌های فلفل سیاه فله و بسته‌بندی تایید گردید. اگرچه در هیچ نمونه‌ای میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> از حد مجاز تعیین شده توسط استاندارد اتحادیه اروپا و استاندارد ملی ایران (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) فراتر نرفت، اما وجود آفلاتوکسین در تمامی نمونه‌ها، نشان‌دهنده فراگیر بودن آلودگی در زنجیره عرضه فلفل سیاه است. آفلاتوکسین‌ها آلاینده‌های اجتناب‌ناپذیر مواد غذایی هستند که تهدیدی جدی برای سلامتی انسان‌ها و حیوانات محسوب می‌شوند.

مطالعات غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> کمتر از حد مجاز استاندارد بوده که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

جدول ۴. بررسی میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و آفلاتوکسین کل در فلفل سیاه عرضه شده در کشورهای مختلف

کشور	نوع محصول	تعداد نمونه‌ها	تعداد نمونه‌های مثبت (درصد)	تعداد نمونه‌های فراتر از حد مجاز (درصد)	روش سنجش	مایکوتوکسین	محدوده (µg/kg)	منابع
تانزانیا	فلفل سیاه پودری	۳۰	۳ (۱۰)	۲ (۶.۷)	HPLC	AFB <sub>1</sub>	۱۶۴/۸۶-۳/۳۸	(24)
برزیل	فلفل سیاه پودری	۳۰	۳۰ (۱۰۰)	۰ (۰)	HPLC	AFB <sub>1</sub>	<۲	(7)
ایران	فلفل سیاه پودری	۲۰	۴ (۲۰)	۰ (۰)	HPLC	AFs	۲/۴۷-۱/۱۷	(25)
ایران و هند	فلفل سیاه پودری	۱۲	۱۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	ELISA	AFB <sub>1</sub>	۰/۰۴۸-۰/۵۳۵	(26)
	فلفل سیاه درسته	۱۲	۱۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	ELISA	AFB <sub>1</sub>	۰/۰۳۱-۰/۲۶۶	
ترکیه	فلفل سیاه پودری	۲۳	۷ (۳۰/۴)	۰ (۰)	HPLC	AFs	۰/۱۳-۰/۴۶	(27)
کره	فلفل سیاه پودری	۲	۰ (۰)	۰ (۰)	HPLC	AFB <sub>1</sub>	ND	(28)
بحرین	فلفل سیاه پودری	۴	۴ (۱۰۰)	۴ (۱۰۰)	HPLC	AFs	۱۰/۳-۱۳/۸	(29)
ایتالیا	فلفل سیاه پودری	۱۱	۰ (۰)	۰ (۰)	ELISA	AFB <sub>1</sub>	ND	(30)
مجارستان	فلفل سیاه پودری	۵	۱ (۱۷)	۰ (۰)	HPLC	AFB <sub>1</sub>	۰/۴۶	(31)
هند	فلفل سیاه	۲۸	۲۸ (۱۰۰)	ND	ELISA	AFB <sub>1</sub>	۳/۳-۶۴	(32)

درصد از نمونه‌های فلفل سیاه مورد بررسی آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> بوده که یافته‌های پژوهش حاضر را تایید می‌کند (۳۳).

در پژوهش دیگری Khazaeli و همکاران، ۷ نمونه فلفل سیاه عرضه شده به دو صورت فله و بسته‌بندی را از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری و به منظور بررسی شیوع آفلاتوکسین مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. آن‌ها آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را در ۵ نمونه با غلظتی بین ۰/۷-۸/۴ میکروگرم بر کیلوگرم شناسایی کردند (۱۱) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

در مقایسه بین نمونه‌های فلفل فله‌ای پودری و درسته، غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های پودری به طور معناداری بالاتر بود. نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج مطالعه Mozaffarinejad و Giri تحت عنوان اندازه‌گیری آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل‌های قرمز و سیاه شهرستان قائم‌شهر مطابقت دارد. آن‌ها در این مطالعه ۱۸ نمونه از فلفل‌های تجاری شامل ۶ نمونه پودر فلفل سیاه، ۶ نمونه فلفل قرمز و ۶ نمونه فلفل سیاه درسته را به روش ELISA مورد آزمایش قرار دادند و در نتایج خود آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را در تمام

وجود آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌های فلفل سیاه می‌تواند به عوامل متعددی نسبت داده شود. ادویه‌هایی مانند فلفل سیاه طی فرآیند برداشت، خشک کردن و انبارداری در معرض آلودگی قارچی قرار می‌گیرند، خصوصاً اگر شرایط دما و رطوبت کنترل شده نباشد. از آنجایی که فلفل سیاه محصولی است که بیشتر در مناطق گرمسیری رشد می‌کند، احتمال آلودگی آن حتی قبل از فرآوری نهایی بالاست. علاوه بر این، خشک کردن غیراستاندارد یا نگهداری در انبارهای مرطوب می‌تواند شرایط مناسب برای رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین را فراهم کند (۲). مطالعه‌ای در ایران با هدف بررسی میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در ادویه‌های عرضه شده در شهر تبریز و ارزیابی ریسک بهداشتی ناشی از مصرف این ادویه‌ها، توسط Seyed Razavi و Movassaghazani در سال ۲۰۲۴ انجام گرفت. در این مطالعه، میزان آلودگی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در ۷۵ نمونه از ادویه‌های فلفل سیاه، فلفل قرمز و زردچوبه عرضه شده در شهر تبریز بررسی شد. جهت اندازه‌گیری غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه‌ها، روش HPLC مورد استفاده قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ۷۱

مقایسه سطح آلودگی با سطح استاندارد تعیین شده، با یافته‌های مطالعه ما مطابقت ندارد زیرا در تحقیق حاضر هیچ‌یک از نمونه‌ها آلودگی فراتر از حد مجاز نداشتند.

از نظر اثر بسته‌بندی، در این تحقیق بین نمونه‌های فله‌ای و بسته‌بندی شده اختلاف معناداری مشاهده نشد. این موضوع نشان می‌دهد که بسته‌بندی مورد استفاده در بازار احتمالاً فاقد اثر حفاظتی کافی در برابر رشد قارچ یا تولید آفلاتوکسین بوده است، یا اینکه آلودگی پیش از بسته‌بندی رخ داده است. در مطالعه‌ای که با هدف بررسی تأثیر شرایط نگهداری بر تولید آفلاتوکسین در ادویه‌ها در سال ۲۰۲۳ توسط Abrar و همکاران انجام شد، نمونه‌هایی از فلفل قرمز، فلفل سیاه و زیره در دو نوع بسته‌بندی پلی‌اتیلنی با چگالی بالا (HDPE) و کیسه‌های کنفی قرار گرفته و در دمای کنترل شده ۲۵ درجه سلیسیوس و رطوبت‌های نسبی مختلف (۶۵٪، ۷۵٪ و ۸۵٪) نگهداری شدند. براساس نتایج حاصله، بالاترین سطح آفلاتوکسین در نمونه فلفل قرمز بسته‌بندی شده در کیسه کنفی با رطوبت ۸۵٪ مشاهده شد، در حالی که نمونه‌های نگهداری شده در بسته‌بندی پلی‌اتیلن با رطوبت ۶۵٪، حتی پس از گذشت ۹۰ روز فاقد آفلاتوکسین بودند. این نتایج نشان می‌دهد که استفاده از بسته‌بندی پلی‌اتیلنی و کنترل رطوبت محیط به‌طور مؤثری می‌تواند از رشد قارچ‌ها و تولید آفلاتوکسین در طول دوره نگهداری ادویه‌ها جلوگیری کند (۳۷).

اگرچه نتایج مطالعه حاضر نتوانست نقش تعیین‌کننده‌ای برای بسته‌بندی در کاهش میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> نشان دهد، اما این امر لزوماً به معنای بی‌تأثیر بودن بسته‌بندی نیست، بلکه ممکن است ناشی از ناکارآمدی بسته‌بندی‌های رایج در بازار یا شرایط نگهداری نامناسب پیش از بسته‌بندی باشد. از سوی دیگر، افزایش قابل توجه آلودگی در نمونه‌های پودری نسبت به درسته، نشان می‌دهد که شکل فیزیکی محصول می‌تواند نقشی کلیدی‌تر از شکل عرضه در تسهیل رشد قارچ و تولید سم ایفا کند. بنابراین، تمرکز بر فرآوری و کنترل رطوبت در مراحل اولیه زنجیره تأمین می‌تواند در

نمونه‌های فلفل سیاه جمع‌آوری شده در محدوده ۵۳۵۸۴-۳۶/۱۶ نانوگرم بر کیلوگرم یافتند. به علاوه در این مطالعه مشخص گردید که نمونه‌های فلفل سیاه پودری آلودگی بالاتری نسبت به نمونه‌های درسته داشتند. با این حال، میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در هیچ نمونه‌ای از حد مجاز اتحادیه اروپا و استاندارد ملی ایران فراتر نرفت (۱۹). این نتایج تأکید می‌کند که فرآوری فلفل به صورت پودر می‌تواند خطر آلودگی به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را افزایش دهد. این امر می‌تواند به دلیل سطح تماس بیشتر فلفل پودری با هوا و رطوبت باشد که شرایط مناسبی را برای رشد قارچ‌ها فراهم می‌کند.

در مطالعه‌ای مشابه اقبال و همکاران میزان بروز و محدوده غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل‌های قرمز عرضه شده در پاکستان را مورد پژوهش قرار دادند. آن‌ها در نتایج خود گزارش کردند که نمونه فلفل‌های پودری بالاترین میانگین غلظت آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را در مقایسه با نمونه فلفل‌های درسته داشته‌اند که این امر در پژوهش حاضر نیز صادق می‌باشد (۳۴).

در پژوهش دیگری Colak و همکاران ۸۴ نمونه ادویه را در ترکیه به روش ELISA و HPLC مورد آزمایش قرار دادند که ۲۴ نمونه از آن‌ها متعلق به فلفل سیاه بود. آن‌ها در یافته‌های خود از ۲۴ نمونه فلفل سیاه ۲ نمونه را حاوی آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در سطوح ۹/۸ و ۱۰/۳ میکروگرم بر کیلوگرم یافتند. در نهایت، به‌منظور تأیید نمونه‌های مثبت آن‌ها را با استفاده از روش HPLC نیز آنالیز کردند و نتایج مشابهی را به دست آوردند (۳۵). بنابراین، با توجه به محدود بودن تعداد نمونه‌های آلوده در این مطالعه، یافته‌های حاصل با نتایج مطالعه ما همخوانی ندارد. همچنین، Tosun و Arslan در مطالعه‌ای با عنوان تعیین سطح آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در ادویه‌جات و گیاهان ارگانیک، ۴ نمونه از ۶ نمونه فلفل سیاه مورد بررسی را آلوده به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> با غلظتی مابین ۲۴/۶ تا ۳۰ میکروگرم بر کیلوگرم یافتند که در تمام نمونه‌ها سطح آلودگی بالاتر از حد استاندارد (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) بود (۳۶). نتایج حاصل از این پژوهش از نظر

در فلفل سیاه کاسته شود. همچنین، عرضه فلفل سیاه به صورت درسته و آسیاب کردن آن توسط مصرف کنندگان قبل از استفاده می تواند در کاهش میزان آلودگی مؤثر باشد. که البته این امر در وهله اول مستلزم آموزش عموم می باشد. علاوه بر موارد مذکور ضروریست نظارت بر اجرای دقیق استانداردهای مربوطه اعمال گردد تا از اثرات سوء آفاتوکسین ها بر سلامت انسان پیشگیری گردد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی کردستان با کد اخلاق IR.MUK.REC.1401.049 در سال ۱۴۰۱ می باشد. نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کردستان به جهت حمایت های مالی ابراز می نمایند. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه های حامی تعارض منفعی برای انتشار این مقاله ندارند.

مدیریت ریسک آفاتوکسین مؤثرتر از صرفاً تغییر نوع بسته بندی باشد.

### نتیجه گیری

در مطالعه حاضر آلودگی آفاتوکسین B<sub>1</sub> در فلفل های سیاه عرضه شده به صورت فله و بسته بندی در شهر سنندج مورد ارزیابی قرار گرفت و یافته های حاصل شیوع بالای آفاتوکسین B<sub>1</sub> را نشان داد. اگرچه سطح آلودگی همه نمونه ها کمتر از حد استاندارد (۵ میکروگرم بر کیلوگرم) بود اما به علت وجود آفاتوکسین B<sub>1</sub> در نمونه های فلفل سیاه اعم از فله و بسته بندی که می تواند یک خطر بالقوه برای سلامت مصرف کنندگان باشد و استفاده زیاد از این ادویه (به صورت خام و حرارت داده شده) در تهیه غذا، غربالگری پیشگیرانه کل زنجیره غذایی توصیه می شود. بر این اساس بایستی تلاش هایی برای مدیریت آلودگی آفاتوکسین B<sub>1</sub> با ترویج اصول علمی کشاورزی و در نظر گرفتن یک برنامه پیشگیری در مراحل مختلف از کشت تا برداشت، پردازش، ذخیره سازی، حمل و نقل و بازاریابی ایجاد شود تا از خطرات مربوط به آلودگی آفاتوکسین B<sub>1</sub>

### منابع

- 1.Khan R. Mycotoxins in food: Occurrence, health implications, and control strategies-A comprehensive review. *Toxicon*. 2024;108038.
- 2.Shabeer S, Asad S, Jamal A, Ali A. Aflatoxin contamination, its impact and management strategies: an updated review. *Toxins*. 2022;14(5):307.
- 3.Álvarez-Días F, Torres-Parga B, Valdivia-Flores AG, Quezada-Tristán T, Alejos-De La Fuente JI, Sosa-Ramírez J, et al. *Aspergillus flavus* and total aflatoxins occurrence in dairy feed and aflatoxin M1 in bovine milk in Aguascalientes, México. *Toxins*. 2022;14(5):292.
- 4.Jalili M. Evaluation of aflatoxins clean-up from pepper samples using multifunctional column and its comparison with immunoaffinity column. *Res. Innov. Food Sci. Technol*. 2015;4(3):209-18.
- 5.Mahato DK, Lee KE, Kamle M, Devi S, Dewangan KN, Kumar P, et al. Aflatoxins in food and feed: An overview on prevalence, detection and control strategies. *Front. Microbiol*. 2019;10:2266.
- 6.Yadav N, Yadav SS, Chhillar AK, Rana JS. An overview of nanomaterial based biosensors for detection of Aflatoxin B1 toxicity in foods. *Food Chem. Toxicol*. 2021;152:112201.
- 7.Iha MH, Rodrigues ML, Briganti RdC. Survey of aflatoxins and ochratoxin A in spices from brazilian market. *Braz. Arch. Biol. Technol*. 2022;64:e21210244.

8. Yogendrarajah P, Devlieghere F, Ediage EN, Jacxsens L, De Meulenaer B, De Saeger S. Toxicogenic potentiality of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains isolated from black pepper assessed by an LC-MS/MS based multi-mycotoxin method. *Food Microbiol.* 2015;52:185-96.
9. Tomah AA, Khattak AA, Aldarraj MH, Al-Maidi AAH, Mohany M, Al-Rejaie SS, et al. Sclerotia degradation by *Trichoderma*-mycoparasitic; an effective and sustainable trend in the drop lettuce disease control caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Arch. Microbiol.* 2024;206(7):286.
10. Al Ayoubi M, Solfrizzo M, Gambacorta L, Watson I, El Darra N. Risk of exposure to aflatoxin B1, ochratoxin A, and fumonisin B1 from spices used routinely in Lebanese cooking. *Food Chem. Toxicol.* 2021;147:111895.
11. Khazaeli P, Mehrabani M, Heidari MR, Asadikaram G, Najafi ML. Prevalence of aflatoxin contamination in herbs and spices in different regions of Iran. *Iran. J. Public Health.* 2017;46(11):1540.
12. Hammouti B, Dahmani M, Yahyi A, Ettouhami A, Messali M, Asehraou A, et al. Black Pepper, the "King of Spices": Chemical composition to applications. *Arab J. Chem. Environ. Res.* 2019;6:12-56.
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. EC. Commission Regulation (EC) No. 685/2020 of 20 May 2020 setting maximum levels for certain contaminants in food stuffs as regards aflatoxins. *Off. J. Eur. Union.* 2020;160(3):1-3.
15. Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). Food and Feed- Mycotoxins Maximum Tolerated Level- Aflatoxins (ISIRI Standard No. 5925). Iran. 2002.
16. Barani A, Nasiri Z, Jarrah N. Natural occurrence of aflatoxins in commercial pepper in Iran. *Food Agric. Immunol.* 2016;27(4):570-6.
17. Zinedine A, Brera C, Elakhdari S, Catano C, Debegnach F, Angelini S, et al. Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food control.* 2006;17(11):868-74.
18. Zheng Z, Hanneken J, Houchins D, King RS, Lee P, Richard JL. Validation of an ELISA test kit for the detection of ochratoxin A in several food commodities by comparison with HPLC. *Mycopathologia.* 2005;159(2):265-72.
19. Mozaffarnejad AS, Giri A. The Measurement of Aflatoxin B1 in Chilli and Black Peppers of Qaemshahr, Iran. *J. Kerman Univ. Med. Sci.* 2015;22(2):185-193.
20. Mohammadi S, Ghahremani E, Dehestaniathar S, Zandi S, Zakariai A, Mohammadi M, et al. Determination of aflatoxin B1 concentration in poultry feed in the poultry farms of Sanandaj using ELISA method. *Sci. J. Kurdistan Univ. Med. Sci.* 2021;25(6):49-56.
21. EuroProxima. Enzyme-Linked immunosorbent assay for the quantitative analysis of Aflatoxin B1. RIDASCREEN Aflatoxin B1 E. (Netherlands). In: 30/15 Art. No.: R1211, Editor. 2016.
22. Zarehshahrabadi Z, Bahmyari R, Nouraei H, Khodadadi H, Mehryar P, Asadian F, et al. Detection of aflatoxin and ochratoxin A in spices by high-performance liquid chromatography. *J. Food Qual.* 2020.
23. Pesavento G, Ostuni M, Calonico C, Rossi S, Capei R, Nostro AL. Mycotic and aflatoxin contamination in *Myristica fragrans* seeds (nutmeg) and *Capsicum annum* (chilli), packaged in Italy and commercialized worldwide. *J. Prev. Med. Hyg.* 2016;57(2):E102.

24. Peter LG. Aflatoxins contamination in spices and associated predisposing factors in Morogoro region, Tanzania. *Sokoine Univ. Agric.* 2021.
25. Zarehshahrabadi Z, Bahmyari R, Nouraei H, Khodadadi H, Mehryar P, Asadian F, et al. Detection of aflatoxin and ochratoxin A in spices by high-performance liquid chromatography. *J. Food Qual.* 2020;2020(1):8858889.
26. Mozaffari Nejad AS, Sabouri Ghannad M, Kamkar A. Determination of aflatoxin B1 levels in Iranian and Indian spices by ELISA method. *Toxins Rev.* 2014;33(4):151-4.
27. Ozbey F, Kabak B. Natural co-occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in spices. *Food Control.* 2012;28(2):354-61.
28. Cho S-H, Lee C-H, Jang M-R, Son Y-W, Lee S-M, Choi I-S, et al. Aflatoxins contamination in spices and processed spice products commercialized in Korea. *Food Chem.* 2008;107(3):1283-8.
29. Musaiger AO, Al-Jedah JH, D'souza R. Occurrence of contaminants in foods commonly consumed in Bahrain. *Food control.* 2008;19(9):854-61.
30. 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.
31. Fazekas B, Tar A, Kovacs M. Aflatoxin and ochratoxin A content of spices in Hungary. *Food Addit. Contam.* 2005;22(9):856-63.
32. D Maye K. Incidence of aflatoxin contamination in selected spice samples in Andhra Pradesh. Acharya NG Ranga Agric. Univ. 1999.
33. Razavi MS, Movassaghghazani M. Risk characterization for aflatoxin B1 in spices in Tabriz, Iran. *J. Food Compos. Anal.* 2024;136:106799.
34. Iqbal SZ, Paterson RRM, Bhatti IA, Asi MR, Sheikh MA, Bhatti HN. Aflatoxin B 1 in chilies from the Punjab region, Pakistan. *Mycotoxin Res.* 2010;26:205-9.
35. Colak H, Bingol EB, Hampikyan H, Nazli B. Determination of aflatoxin contamination in red-scaled, red and black pepper by ELISA and HPLC. *Journal of Food and Drug Analysis.* 2006;14(3):292-6.
36. Tosun H, Arslan R. Determination of aflatoxin B1 levels in organic spices and herbs. *Sci. World J.* 2013;2013.
37. Abrar M, Ahsan S, Nadeem M, Liaqat A, Chughtai MFJ, Farooq MA, et al. Detection and quantification of aflatoxins in spices stored in different food packaging materials. *J. Stored Prod. Res.* 2023;101:102081.