مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۹
صفحات: ۹۳-۸۹

Kowsar Medical Journal
Vol. 15, No. 2, Summer 2010
Pages: 89-93

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M1 در شیرهای پاستوریزه

مجید ریاضی‌پور [۱] PhD، حمیدرضا توکلی [*] PhD، مهدی رزاقی ابیانه [۲] PhD، حسن رفعتی [۳] MSc، محمدتقی صدرممتاز [۴] BSc

[*] مرکز تحقیقات بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[۱] مرکز تحقیقات کاربرد درمانی توکسین‌های میکروبی، پژوهشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[۲] گروه قارچ‌شناسی، انستیتو پاستور، تهران، ایران

[۳] مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

[۴] دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌ا...(عج)، تهران، ایران

چکیده

اهداف: هدف این مطالعه، بررسی شیرهای پاستوریزه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M1 و مقایسه محصول دو شرکت عمده تامین‌کننده لبنیات یکی از دانشگاه‌های علوم پزشکی شهر تهران از نظر آلودگی به این مایکوتوکسین بود.

مواد و روش‌ها: ۵۰ نمونه شیر دو کارخانه لبنی، در دو فصل سرد (زمستان ۱۳۸۷) و گرم (تابستان ۱۳۸۸) به‌طور تصادفی انتخاب و میزان آفلاتوکسین M1 در آنها با استفاده از الایزای رقابتی اندازه‌گیری شد. اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون T استودنت در محیط نرم‌افزاری INSTATA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: ۸۴٪ نمونه‌ها به میزان قابل‌اندازه‌گیری، آلوده به آفلاتوکسین M1 بودند. میانگین غلظت این مایکوتوکسین در کل نمونه‌ها ۱۴/۶±۲۰/۷ نانوگرم در لیتر و دامنه آن از ۰ تا ۶۳/۴ نانوگرم در لیتر متغیر بود. میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 تنها در دو نمونه (۴٪)، بالاتر از حد استاندارد ایران (۵۰ نانوگرم در لیتر) قرار داشت. میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در محصولات شرکت یک (۱۵/۷±۲۵/۴) بیشتر از محصولات شرکت دو (۱۱/۶±۱۵/۴) بود (p<۰/۰۱). نمونه‌های زمستانی (۱۵±۳۱/۲) شرکت یک نسبت به نمونه‌های تابستانی (۱۴/۲±۱۸/۵) آن شرکت آلودگی بیشتری داشتند (p<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: شیوع بالای آلودگی با آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه نگران‌کننده است و لزوم پیشگیری از ورود پیش‌ساز این سم (آفلاتوکسین B1) در خوراک دام‌های شیری و نیز لزوم نظارت بیشتر بر توزیع شیر را خاطر نشان می‌کند.

کلیدواژه‌ها: آفلاتوکسین M1، شیر پاستوریزه، الایزا

Measuring the amount of M1 Aflatoxin in pasteurized milks

Riazipour M.[1] *PhD*, Tavakkoli H. R.[*] *PhD*, Razzaghi Abyane M.[2] *PhD*, Raf'ati H.[3] *MSc*, Sadr Momtaz S. M.[4] *BSc*

[*] Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[1] Therapeutic Microbial Toxins Research Center, Baqiyatallah Institute of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2] Department of Mycology, Pasteur Institute, Tehran, Iran

[3] Trauma Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[4] Faculty of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Aims: This study was conducted to investigate the pasteurized milks contamination with M1 Aflatoxin (AFM1) and comparison of the products of two main factories that provide one of Tehran Universities dairy needs, in terms of contaminating with this mycotoxin.

Materials & Methods: Fifty milk samples produced by two dairy factories were randomly selected during two cold (winter 2008) and warm (summer 2009) seasons and their AFM1 concentration was determined by a competitive Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) method. The mean differences were analyzed using student T-test in software INSTATA environment.

Results: 84% of the examined milk samples were contaminated with AFM1 by measurable amounts. Mean of the mycotoxin concentration in whole samples was 20.7±14.6 ng/l ranging from 0 to 63.4 ng/l. AFM1 contamination was higher than Iran national standard (50 ng/ l) only in two (4%) of the milk samples. The mean concentration of AFM1 was higher in no. 1 company's products (25.3±15.7) in comparison with no.2 company (15.4±11.6; p<0.01). The no. 1 company's winter products (31.2±15 ng/l) were more contaminated in contrasting with its summer products (18.5±14.2 ng/l; p<0.05).

Conclusions: High prevalence of AFM1 contamination in pasteurized milk samples is worrying and notifies the necessity of preventing measures to reduce entrance of B1 Aflatoxin to dairy animals' feed and more controlling measures on milk distribution.

Keywords: M1 Aflatoxin, Pasteurized Milk, ELISA

نویسنده مسئول: حمیدرضا توکلی. تمام درخواست‌ها باید به نشانی h.tavakoli1344@yahoo.com فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۸۸/۱۲/۶ پذیرش مقاله: ۸۹/۲/۲۳

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

آفلاتوکسین‌ها گروه مهمی از سموم قارچی (مایکوتوکسین‌ها) هستند که به‌دنبال رشد برخی از گونه‌های آسپرژیلوس به‌ویژه آسپرژیلوس‌فلاووس و آسپرژیلوس‌پارازیتیکوس در محصولات کشاورزی تولید می‌شوند. آفلاتوکسین B1 که سمی‌ترین عضو خانواده آفلاتوکسین محسوب می‌شود، بیش از دیگر انواع آفلاتوکسین در مواد غذایی و علوفه کپک‌زده یافت می‌شود. این مایکوتوکسین پس از ورود به بدن پستانداران به متابولیتی به نام آفلاتوکسین M1 تبدیل می‌شود که از طریق شیر دفع شده [۱، ۲] و به‌دلیل تاثیر ناچیز پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و فرآوری شیر بر بقا و کاهش سمیت آن، سرانجام به فرآورده‌های مختلف شیر انتقال می‌یابد [۱، ۳]. اگرچه سمیت آفلاتوکسین M1 از پیش‌ساز آن کمتر است، اما هر دو سرطان‌زا هستند و توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان، آفلاتوکسین B1 در گروه ۱ و آفلاتوکسین M1 در گروه ۲ مواد کارسینوژن طبقه‌بندی شده‌اند [۴].

برای جلوگیری از ورود آفلاتوکسین M1 از طریق شیر به زنجیره غذایی انسان، قبل از هر چیز باید از ورود پیش‌ساز آن یعنی آفلاتوکسین B1 به خوراک دام‌های شیری جلوگیری نمود [۴]. چون انجام این کار، بسیار مشکل و در حال حاضر تقریباً غیرممکن است، اقدام فوری‌تر و عملی‌تر، آن است که با اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M1 در شیر و فرآورده‌های آن از توزیع و مصرف لبنیات آلوده به مقادیر بالاتر از حد مجازِ این سم در جامعه جلوگیری کرد. همچون بسیاری از کشورها، در ایران نیز مقرراتی برای حداکثرِ مقدار مجازِ آفلاتوکسین M1 در محصولات لبنی مختلف وضع شده است که طبق آن، مقدار مجاز این مایکوتوکسین در شیر حداکثر ۵۰ نانوگرم در لیتر در نظر گرفته شده است [۵].

در دیگر کشورها، مطالعات متعددی به بررسی آلودگی شیر و فرآورده‌های آن به آفلاتوکسین M1 اختصاص یافته است [۱، ۲، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱]. در ایران نیز به‌ویژه در دهه اخیر مطالعاتی در این مورد انجام شده است، از جمله *کریم* و همکاران، با آزمایش ۷۳ نمونه شیر واردشده به کارخانه‌های شیر پاستوریزه تهران دریافتند که ۸۲/۲٪ آنها به آفلاتوکسین M1 آلوده‌اند و میزان آلودگی همه آنها بالاتر از حد مجاز استاندارد ایران (۰/۰۵ µg/l) است [۱۲]. این محقق در مطالعه دیگری نشان داد که از ۵۲ نمونه شیر، ۴۸ مورد (۹۲/۳٪) به آفلاتوکسین M1 آلوده‌اند و دامنه آلودگی آنها از ۲۳ تا ۳۰۰۰ نانوگرم در لیتر متغیر است [۱۳].

همچنین *کامکار* در مطالعه‌ای با بررسی شیرهای خام شهر سراب نشان داد که ۷۶٪ نمونه‌های شیرِ آزمایش‌شده به آفلاتوکسین M1 آلوده هستند و مقدار توکسین در ۴۰٪ آنها بیش از حد مجاز استاندارد است [۱۴]. در سال‌های اخیر برای اندازه‌گیری این مایکوتوکسین در شیرهای پاستوریزه شهرهای مختلف، مطالعات دیگری نیز انجام شده است که نتایج همه آنها نگران‌کننده و حاکی از شیوع بالای آلودگی است [۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹].

هدف از این مطالعه آن بود که اولاً آلودگی شیرهای تهیه‌شده برای مصرف در مجموعه یکی از دانشگاه‌های علوم پزشکی شهر تهران به آفلاتوکسین M1 از نظر تطابق با حد مجاز استاندارد ایران مورد بررسی قرار گیرد و ثانیاً شرکت‌های لبنیِ تامین‌کننده عمده شیر مصرفی این دانشگاه از نظر میزان آلودگی محصولاتشان به آفلاتوکسین M1 مقایسه شوند.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر به‌صورت مقطعی- توصیفی و در دو بخش انجام شد. بخش نمونه‌گیری که در محل‌های نمونه‌گیری انجام گرفت و بخش آماده‌سازی نمونه‌ها و نیز اندازه‌گیری مقدار آفلاتوکسین M1 موجود در آنها که در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه به انجام رسید.

با مراجعه نوبه‌ای به سردخانه نگهداری مواد غذایی دانشگاه در دو فصل سرد (زمستان ۱۳۸۷) و گرم (تابستان ۱۳۸۸)، از محصولات دو شرکت اصلی تامین‌کننده مواد لبنی دانشگاه، ۵۰ نمونه شیر به‌طور تصادفی انتخاب شد. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی، منتقل و تا زمان انجام آزمایشات بعدی در فریزر $-۲۰^{o}C$ نگهداری شدند.

برای آماده‌سازی نمونه‌ها، نمونه‌های شیر در یخچال معمولی قرار گرفت تا دمای آن به کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد برسد. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در g ۳۵۰۰، سانتریفیوژ شده و لایه‌رویی حاوی چربی با استفاده از پیپت پاستور حذف شد. مایع زیرینِ باقی‌مانده برای انجام آزمون الایزا مورد استفاده قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 موجود در نمونه‌ها از روش الایزای رقابتی استفاده شد. برای این کار کیت Aflatoxin M1 30/15 RIDASCREEN® (R-Biopharm؛ آلمان) به‌کار رفت و مراحل ذیل طبق دستورالعمل کیت انجام شد:

به تعداد کافی چاهک کیت از بسته‌بندی خارج و در قالب مربوطه تعبیه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های شیرِ چربی‌زدایی‌شده در چاهک‌های جداگانه قرار گرفت. از استانداردهای شماره ۱ تا ۶ به‌مقدار ۱۰۰ میکرولیتر داخل چاهک‌ها ریخته شد. پلیت به‌آرامی با چرخاندن، مخلوط شد و به‌مدت نیم ساعت در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی قرار گرفت. مایع موجود در حفرات، تخلیه و داخل آنها ۳بار با بافر شستشوی تعبیه‌شده در کیت، شسته شد. ۱۰۰ میکرولیتر کونژوگه آنزیمی که به نسبت ۱ به ۱۱ در بافر شماره ۲ رقیق شده بود، به هر حفره اضافه و بعد از مخلوط‌شدن به‌آرامی، به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی قرار گرفت. سپس مایع موجود در حفرات، تخلیه شده و داخل آنها ۳بار با بافرِ شستشو، شسته شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوبسترای کروموژن، اضافه شده و پس از مخلوط‌کردن به‌مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی در دمای محیط انکوبه شد.

Archive of SID
www.SID.ir

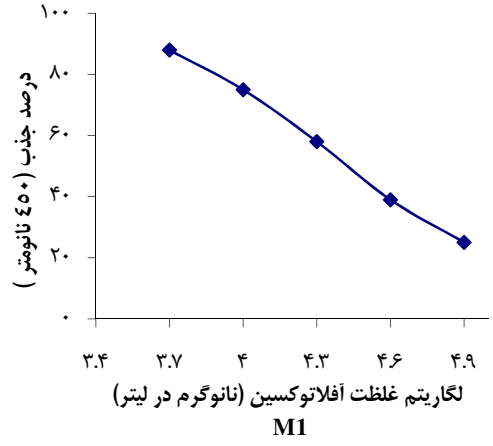
برای ختم واکنش، ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده افزوده شد و حداکثر تا ۱۵ دقیقه بعد، جذب حفرات در طول موج ۴۵۰ نانومتر در مقابل بلانک هوا قرائت شد.

برای محاسبه غلظت توکسین در نمونه‌ها از منحنی استاندارد نیمه لگاریتمی استفاده شد. پس از قرائت نتیجه الایزا، با تقسیمِ جذب استانداردهای ۲ تا ۶ تعبیه‌شده در کیت، بر میزان جذب استاندارد شماره ۱ (کنترل منفی، فاقد آفلاتوکسین M1) و ضربِ آن در عدد ۱۰۰، درصد جذب استانداردها مشخص شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار Curve، با قراردادن لگاریتمِ غلظت استانداردها روی محور افقی و درصد جذب آنها در طول موج ۴۵۰ ناتومتر روی محور عمودی، منحنی استاندارد رسم و غلظت سم در نمونه‌های مجهول با اِعمال ضرایب رقت محاسبه شد.

نرم‌افزار آماری INSTATA برای آنالیز نتایج به‌کار رفت. اختلاف میانگین آلودگی‌ها با استفاده از آزمون T استودنت مورد بررسی قرار گرفت و $p<0/05$، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نمودار ۱ منحنی استاندارد تهیه‌شده برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 در شیر را نشان می‌دهد. قراردادن لگاریتم غلظت نمونه‌های استاندارد تعبیه‌شده در کیت در مقابل درصد جذب آنها در ۴۵۰ نانومتر، همواره یک منحنی با ضریب همبستگی بیش از ۰/۹۹ به‌دست داد که به‌عنوان منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری مقدار سم موجود در لبنیات مورد استفاده قرار گرفت.



نمودار ۱) منحنی استاندارد برای محاسبه غلظت آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های مجهول

نتایج الایزا نشان داد که از ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه تهیه‌شده برای انجام این مطالعه، ۴۲ نمونه (۸۴٪) دارای مقادیر قابل اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 هستند. میانگین غلظت سم در کل نمونه‌ها ۱۴/۶±۲۰/۷ نانوگرم در لیتر، میانه آن ۱۸/۶ و دامنه غلظت از ۱۱/۴ تا ۶۳/۴ نانوگرم در لیتر متغیر بود. با ملاک قراردادن استاندارد ایران، دو نمونه دارای مقادیر بالاتر از حد مجاز بودند که غلظت آفلاتوکسین در یکی ۵۵/۸ نانوگرم در لیتر و در دیگری ۶۳/۴ نانوگرم در لیتر بود و هر دو به شرکت یک تعلق داشتند.

میانگین غلظت سم در نمونه‌های شیر تهیه‌شده در فصل زمستان و فصل تابستان به‌ترتیب ۱۶±۲۳/۵ و ۱۲/۵±۱۷/۴ نانوگرم در لیتر بود. آزمون آماری نشان داد که اختلاف مشاهده‌شده بین این دو گروه از نمونه‌ها، معنی‌دار نیست.

دامنه غلظت آفلاتوکسین در شیر شرکت یک از ۰ تا ۶۳/۴ نانوگرم در لیتر و در شیر شرکت دو از ۰ تا ۴۳/۴ نانوگرم در لیتر متغیر بود. میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در محصولات شرکت یک ۱۵/۷±۲۵/۴ نانوگرم در لیتر و شرکت دو ۱۱/۶±۱۵/۴ نانوگرم در لیتر بود. میانگین غلظت این سم در شیر شرکت یک بیشتر از مقدار آن در شیر شرکت دو بود ($p<0/01$).

میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر شرکت یک تهیه‌شده در فصل زمستان بیشتر از غلظت این سم در نمونه‌های تابستان بود. میانگین آلودگی نمونه‌های شیر در دو فصل زمستان و تابستان به‌ترتیب ۱۵±۳۱/۲ و ۱۴/۲±۱۸/۵ نانوگرم در لیتر و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/02$). برای نمونه‌های شیر شرکت دو، میانگین غلظت نمونه‌های زمستان و تابستان به‌ترتیب ۱۲/۵±۱۴/۵ و ۱۱/۱±۱۶/۲ نانوگرم در لیتر بود که از نظر آماری فاقد اهمیت بود.

بحث

مایکوتوکسین‌ها مواد بیولوژیکی هستند که به‌دنبال رشد قارچ‌های توکسین‌زا در مواد غذایی، تولید و کیفیت بهداشتی آنها را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بنابراین برای تامین سلامت مصرف‌کنندگان لازم است وجود و مقدار مایکوتوکسین‌های مختلف در مواد غذایی به‌طور دایم اندازه‌گیری شده و برای به حداقل‌رساندن آنها در زنجیره غذایی برنامه‌ریزی شود.

نتایج ما نشان داد که ۹۴٪ نمونه‌های شیر تهیه‌شده برای این مطالعه، کم‌وبیش به آفلاتوکسین M1 آلودگی دارند. گزارشات مختلفی در مورد شیوع آلودگی نمونه‌های شیر به آفلاتوکسین M1 وجود دارد و مطالعات قبلی در ایران نیز در بیشتر موارد، درصد بالایی از آلودگی را نشان داده‌اند. به‌طوری که *کریم* و همکاران، در مطالعه‌ای ۸۲/۲٪ [۱۲] و در مطالعه‌ای دیگر ۹۲/۳٪ [۱۳] نمونه‌های شیر تهران را آلوده به آفلاتوکسین M1 گزارش کردند و مطالعه *کامکار* نشان داد که ۷۶٪ نمونه‌های شیر آزمایش‌شده به این مایکوتوکسین آلوده هستند [۱۴].

در مطالعه *غیاثیان*، شیوع آلودگی ۶۴٪ گزارش شد [۲۰] و *تاج‌کریمی* و همکاران نشان دادند که همه نمونه‌های شیر که از ۵ ناحیه جغرافیایی مختلف تهیه شده بود، کم‌وبیش به این مایکوتوکسین آلودگی دارند [۱۶]. همچنین *البرزی*، با مطالعه ۶۲۴ نمونه شیر پاستوریزه در شیراز [۱۵]، *ویسی* با مطالعه ۱۲۸ نمونه شیر پاستوریزه

Archive of SID
www.SID.ir

در تهران [۱۷]، *تاجیک* با مطالعه ۱۴۴ نمونه شیر خام و پاستوریزه در ارومیه [۲۱]، *سفیدگر* با مطالعه ۱۲۰ نمونه شیر خام در بابل [۱۸]، *غازانی* با مطالعه ۵۰ نمونه شیر پاستوریزه در تبریز [۱۹] و *نعمتی* با بررسی ۹۰ نمونه شیر پاستوریزه در اردبیل [۴] نشان دادند که ۱۰۰٪ نمونه‌ها دارای آلودگی با آفلاتوکسین M1 هستند.

شیوع بالای آلودگی در دیگر کشورها نیز مشاهده می‌شود. به‌عنوان مثال *مارتینس* با مطالعه روی شیرهای خام و استریل‌شده در پرتغال نشان داد که ۸۳/۲٪ نمونه‌ها به آفلاتوکسین M1 آلودگی دارند [۲۲] و *گالوانو* نیز گزارش کرد که ۷۸٪ نمونه‌های شیر در ایتالیا به آفلاتوکسین M1 آلوده هستند [۲۳]. اما *اُروک*، تنها ۱۰٪ نمونه‌های شیر مورد آزمایشِ خود در ترکیه را آلوده به این مایکوتوکسین تشخیص داد [۱۱]. در حالی که مطالعه دیگری در همان سال در ترکیه، ۸۷/۸٪ نمونه‌های شیر را آلوده گزارش کرد [۲۴].

شیرِ کاملاً عاری از آفلاتوکسین، مطلوب در نظر گرفته می‌شود، اما رسیدن به این ایده‌آل به‌آسانی امکان‌پذیر نیست. بنابراین تمام کشورها (بسته به شرایط خاص خود)، آلودگی شیر با مقادیری از این سم را می‌پذیرند [۴]. در ایران نیز موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، حداکثر مقدار مجاز آفلاتوکسین M1 در شیر را ۵۰ نانوگرم در لیتر تعیین نموده است [۵]. اما متاسفانه در برخی از مطالعات، استاندارد ایران اشتباه در نظر گرفته شده [۲۵، ۲۶] یا ایران فاقد استاندارد ملی معرفی شده است [۴]. در بسیاری از مطالعات نیز استاندارد اروپا [۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱] یا ایالات متحده [۲۶] به‌عنوان ملاک ارزیابی در نظر گرفته شده است. براساس استاندارد ایران خوشبختانه تنها ۴٪ نمونه‌های ما به این مایکوتوکسین در مقادیر بالاتر از حد مجاز آلوده بودند و بقیه در محدوده قابل قبول قرار داشتند.

در مطالعات مشابهِ انجام‌گرفته در ایران، نسبت نمونه‌های دارای مقادیر غیرمجاز، دامنه وسیعی را نشان می‌دهد. همه نمونه‌های آلوده به آفلاتوکسین M1 در مطالعه *کریم* و همکاران به مقادیر بالاتر از حد مجاز ایران آلودگی داشتند [۱۲]. در حالی که در مطالعه *تاج‌کریمی* علی‌رغم آلودگی همه نمونه‌ها به این مایکوتوکسین، غلظت سم در هیچ‌یک از آنها فراتر از حد مجاز نبود [۱۶]. در سایر مطالعات نتایجی مابین این دو مطالعه به‌دست آمده است، به‌طوری که نسبت نمونه‌های غیرمجاز در مطالعه *کامکار*، ۴۰٪ [۱۴]، *البرزی* ۱۷/۸٪ [۱۵]، *اویسی* ۷۸٪ [۱۷]، *غیاثیان* ۱۱/۸٪ [۲۰]، *تاجیک* ۶/۲۵٪ [۲۱]، *سفیدگر* ۵۶/۷٪ [۱۸]، *غازانی* ۶۲٪ [۱۹] و در مطالعه *نعمتی* ۳۳/۳٪ [۴] گزارش شده است. *رحیمی* هیچ‌یک از نمونه‌های خود را دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز گزارش نکرده است، اما ملاک ارزیابی در مطالعه وی، استاندارد ایالات متحده (۵۰۰ نانوگرم در لیتر) بوده است [۲۶] که اگر استاندارد ملی ایران را به‌عنوان ملاک در نظر بگیریم ۲۹/۸٪ نمونه‌های مثبت آن مطالعه، دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز بوده‌اند. نتایج ما نشان داد که میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در شیرهای شرکت یک بیشتر از شیرهای شرکت دو است. با توجه به این‌که کیفیت شیر دریافتی، مهم‌ترین عامل تاثیرگذار بر میزان آلودگی محصولات شرکت‌های لبنیاتی به آفلاتوکسین M1 است و فرآیندهایی که در کارخانه انجام می‌شود (حتی اگر با رشد قارچ‌ها همراه باشد)، در تولید این مایکوتوکسین نقشی ندارد، بنابراین کارخانجات برای بهبود کیفیت محصولات خود باید حتی‌الامکان از پذیرش شیرهای آلوده خودداری کنند. این امر در مواردی به‌علت موقعیت جغرافیایی کارخانه امکان‌پذیر نیست. زیرا شرایط اقلیمی دام‌های شیری بر میزان آلودگی شیر آنها موثر است، چنان‌که مطالعه *تاج‌کریمی* در ایران نیز نشان داد آلودگی شیر مناطق جغرافیایی مختلف به‌طور قابل توجهی با یکدیگر اختلاف دارد [۱۶].

میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های زمستانی شرکت یک به‌طور معنی‌داری بیشتر از نمونه‌های شیر تهیه‌شده از این شرکت در تابستان بود. اما اختلافات مشاهده‌شده بین کل نمونه‌های زمستان و تابستان و نیز نمونه‌های زمستانی و تابستانی شرکت دو اهمیت آماری نداشت. در برخی از مطالعات، تاثیر فصل بر آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 مورد بررسی قرار گرفته است [۲۴]. در ایران نیز در مطالعه‌ای اختلاف آلودگی نمونه‌های شیر در فصول مختلف، فاقد اهمیت آماری بود [۱۶]. اما در مطالعه *کامکار*، آلودگی نمونه‌های شیر پاییز و زمستان بیشتر از نمونه‌های بهار و تابستان گزارش شد [۱۴]. در مطالعه *غیاثیان* آلودگی نمونه‌های زمستان بیشتر از تابستان بود [۲۰] و بررسی *نعمتی*، آلودگی بیشترِ شیرهای زمستان و بهار نسبت به شیرهای تابستان و پاییز را نشان داد [۴]. این اختلافات به تفاوت تغذیه دام‌های شیری در فصول سرد و گرم نسبت داده می‌شود [۴]. آلودگی غذای دام به آفلاتوکسین B1 (پیش‌ساز آفلاتوکسین M1) مهم‌ترین عامل آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 محسوب می‌شود و حضور آفلاتوکسین B1 در علوفه خود نشانگر فراهم‌بودن شرایط برای رشد قارچ‌ها و تولید این مایکوتوکسین است. در فصول سرد برای تغذیه دام‌های شیری به جای علوفه تازه معمولاً از علوفه انبارشده و غذاهای صنعتی استفاده می‌شود که احتمال رشد قارچ‌ها و ایجاد آفلاتوکسین‌ها از جمله آفلاتوکسین B1 در آنها بیشتر است و حضور آفلاتوکسین M1 در شیر را به‌دنبال دارد.

در مطالعه ما برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر از روش الایزا استفاده شد. بسیاری از مطالعات انجام‌شده در ایران به‌ویژه در سال‌های اخیر نیز این روش را به‌کار برده‌اند. روش‌های دیگری از جمله HPLC و TLC نیز برای اندازه‌گیری این مایکوتوکسین وجود دارد. اما در سال‌های اخیر، استفاده از روش الایزا که برای آزمون‌های غربالگری روشی آسان و کم‌هزینه است، رواج بیشتری یافته است. گفته می‌شود یکی از معایب این روش آن است که آلودگی را مقداری بالاتر از میزان واقعی نشان می‌دهد. شیوع بالای آلودگی در مطالعه ما و دیگر مطالعاتی که از این روش استفاده کرده‌اند، ممکن است تا حدی به این عیب نسبت داده شود. بهتر است در کنار آزمون الایزا (حداقل برای تعداد محدودی از نمونه‌ها) از روش‌های تاییدی همچون

Archive of SID
www.SID.ir

HPLC نیز استفاده شود. اگرچه در مواردی به‌علت عدم وجود دستگاه و هزینه بالا این امر به‌آسانی انجام‌پذیر نیست.

نتیجه‌گیری

اگرچه تعداد اندکی از نمونه‌های مورد مطالعه دارای آلودگی بالاتر از حد مجاز بودند (۴٪)، اما شیوع آلودگی با آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر (۸۴٪) نگران‌کننده و بیانگر آن است که دام‌های شیرده به‌شدت درمعرض آفلاتوکسین B1 قرار دارند. بهترین اقدام برای کاهش آفلاتوکسین M1 در لبنیات، بهبود شرایط دام‌پروری به‌منظور کاهش آفلاتوکسین B1 در غذای دام‌های شیری است. تا آن زمان بهتر است برای جلوگیری از توزیع شیرهای آلوده در جامعه، نظارت‌های بیشتری اِعمال شود. به ادارات و سازمان‌های پرمصرف توصیه می‌شود با ارزیابی مداومِ کارخانجات تولیدکننده لبنیات، محصولات لبنی را از شرکت‌های دارای آلودگی کمتر خریداری نمایند.

منابع

1- Unusan N. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. Food Chem Toxicol. 2006;44(11):1897-900.

2- Zinedine A, Gonzalez-Osnaya L, Soriano JM, Molto JC, Idrissi L, Manes J. Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. Int J Food Microbiol. 2007;114(1):25-9.

3- Muscarella M, Lo Magro S, Palermo C, Centonze D. Validation according to European commission decision 2002/657/EC of a confirmatory method for aflatoxin M1 in milk based on immunoaffinity columns and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Ann Chem Acta. 2007;594(2):257-64.

4- Nemati M, Mesgari Abbasi M, Parsa Khankandi H, Ansarin M. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. Food Control. 2010;21(7):1022-4.

5- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Maximum validity Maycotoxins in human food. Tehran: Iran National Standard; 2001. [Persian]

6- Kim EK, Shon DH, Ryu D, Park JW, Hwang HJ, Kim YB. Occurrence of aflatoxin M1 in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. Food Addit Contam. 2000;17(1):59-64.

7- Srivastava VP, Bu-Abbas A, Alaa-Basuny, Al-Johar W, Al-Mufti S, Siddiqui MK. Aflatoxin M1 contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait. Food Addit Contam. 2001;18(11):993-7.

8- Markaki P, Melissari E. Occurrence of aflatoxin M1 in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. Food Addit Contam. 1997;14(5):451-6.

9- Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected North African milk and cheese samples. Food Addit Contam. 2004;21(6):592-7.

10- Rodriguez Velasco ML, Calonge Delso MM, Ordonez Escudero D. ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in raw cow's milk. Food Addit Contam. 2003;20(3):276-80.

11- Oruc HH, Sonal S. Determination of aflatoxin M1 levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. Vet Hum Toxicol. 2001;43(5):292-3.

12- Karim G, Bekaeei S, Khorasani A. Contamination of raw milk with aflatoxin M1 in Tehran using ELISA. Pajoohesh J. 1998;40(3):163-5. [Persian]

13- Karim G, Bokaei S, Khorasani A. Study on the contamination of milk with aflatoxin in Tehran. J Iran Public Health. 1982;11(1-2):19-23. [Persian]

14- Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. Food Control. 2005;16(7):593-9.

15- Alborzi S, Pourabbas B, Rashidi M, Astaneh B. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Shiraz. Food Control. 2006;17:582-4.

16- Tajkarimi M, Shojaee Aliabadi F, Salah Nejad M, Pursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk in five regions in Iran. Int J Food Microbiol. 2007;116(3):346-9.

17- Oveisi MR, Jannat B, Sadeghi N, Hajimahmoodi M, Nikzad A. Presence of aflatoxin M1 in milk and infant milk production Tehran, Iran. Food Control. 2007;18:1216-8.

18- Sefidgar SA, Azizi G, Khosravi AR, Roudbar-Mohammadi S. Presence of aflatoxin M1 in raw milk at cattle farms in Babol, Iran. Pak J Biol Sci. 2008;11(3):484-6.

19- Ghazani MH. Aflatoxin M1 contamination in pasteurized milk in Tabriz. Food Chem Toxicol. 2009;47(7):1624-5.

20- Ghiasian SA, Maghsood AH, Neyestani T, Mirhendi SH. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. J Food Safety. 2007;27:188-98.

21- Tajik H, Rohani SM, Moradi M. Detection of aflatoxin M1 in raw and commercial pasteurized milk in Urmia, Iran. Pak J Biol Sci. 2007;10(22):4103-7.

22- Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized in Portugal. Food Addit Contam. 2000;17(10):871-4.

23- Galvano F, Galofaro V, Ritieni A, Bognanno M, De Angelis A, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: Second year of observation. Food Addit Contam. 2001;18(7):644-6.

24- Bakirci I. A study on the occurrence of aflaatoxin M1 in milk and milk products produced in Van of Turkey. Food Control. 2001;12:47-51.

25- Fallah AA. Assessment of aflatoxin M1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. Food Chem Toxicol. 2010;48(3):988-91.

26- Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR. Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. Food Chem Toxicol. 2010;48(1):129-31.

Archive of SID

www.SID.ir