

تعیین میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر خام تولیدی استان قزوین به روش

الایزا و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

رضا نوریان^{۱*}، علیرضا پورفرزانه^۲، فرامرز مشاطیان^۳

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲. دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی، اداره کل دامپزشکی قزوین، قزوین، ایران.

۳. دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی آبزیان، آزمایشگاه کنترل کیفی مواد غذایی، اداره کل دامپزشکی قزوین، قزوین، ایران.

* نویسنده مسئول: norian.reza@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۳

چکیده

مصرف شیرخام و فرآورده‌های لبنی حاوی سم آفلاتوکسین M1 نگرانی‌های زیادی را در مصرف کنندگان ایجاد کرده است. هدف از این مطالعه، بررسی میزان آفلاتوکسین M1 در شیرخام تولیدی استان قزوین بود. بدین منظور تعداد ۱۷۰ نمونه شیر خام از تانکرهای حمل شیر کارخانجات لبنی، دامداری‌های صنعتی، مراکز جمع آوری شیر و سایر مراکز عرضه شیر در فصل زمستان جمع آوری و از نظر میزان سم آفلاتوکسین M1 با استفاده از روش الایزا مورد سنجش و نمونه‌های بالاتر از ۰/۵ نانوگرم بر میلی لیتر توسط روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جهت تایید نهایی مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌ها با آزمون‌های آماری آنالیز واریانس و توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاکی از آلودگی تمامی نمونه‌ها به سم آفلاتوکسین بود که از این میزان ۳۳/۵۲ درصد نمونه‌ها بیشتر و ۶۶/۴۸ درصد نمونه‌ها کمتر از حد مجاز استاندارد ایران (۰/۵ ppb) بودند. میانگین میزان سم در گاوداری‌های صنعتی ۰/۲۱۵، کارخانجات لبنی ۰/۲۶۸، مراکز جمع آوری شیر ۰/۷۳۴ و مراکز عرضه شیر ۰/۴۰۹ بر حسب نانوگرم در میلی لیتر مشخص گردید. بر اساس این یافته‌ها نظارت گسترده و دقیق بر روی مراکز تولید و عرضه شیر و فرآورده‌های لبنی ضروری است.

واژگان کلیدی: شیرخام، آفلاتوکسین، الایزا، کروماتوگرافی مایع.

مقدمه

آفلاتوکسینی در شیر و دیگر فرآورده‌های حیوانی تهیه شده از دام‌هایی که از مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین تغذیه کرده‌اند وجود دارد لذا پس از جداسازی این سم در شیر، آفلاتوکسین M1 نام گرفت (Van Egmond, 1983). اکثر تحقیقات میزان تبدیل آفلاتوکسین B1 موجود در جیره به آفلاتوکسین M1 را بین ۴-۱ درصد و یا ۳-۱ درصد اعلام کرده‌اند (Aycicek et al., 2005)، ولی نسبت‌های تبدیل حتی تا ۶ درصد نیز در مصارف بالای روزانه سم آفلاتوکسین B1 گزارش شده است به طور خلاصه می‌توان گفت که خطرناک‌ترین آفلاتوکسین که همان نوع B1 است در کبد و با دخالت اکسیدازهای چند کاره توسط گاوهای شیری عمدتاً به مشتق ۴-هیدروکسی خود تبدیل شده و آفلاتوکسین M1 را به وجود می‌آورد (D'Mello and Macdonald, 1997). اگر چه روش‌های کاملاً قابل

مایکوتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها هستند که ممکن است دارای اثرات سمی، سرطان‌زایی، جهش‌زایی و ناقص الخلقه‌زایی باشند (Van Egmond, 1995). آفلاتوکسین‌ها گروهی از ترکیبات بسیار سمی از دسته مایکوتوکسین‌ها هستند که به راحتی در خلال رشد و انبار داری مواد غذایی به وجود می‌آیند. عوارض ناشی از مصرف آفلاتوکسین‌ها معمولاً به دو صورت ظاهر می‌گردد. اول عوارض سریع که مربوط به پدیده مسمومیت و دوم عوارض کند که مربوط به خاصیت سرطان‌زایی می‌باشد (Van Egmond, 1993). حداقل ۱۷ نوع آفلاتوکسین در طبیعت شناخته‌اند که در بین آنها آفلاتوکسین‌های B1, B2, G1, G2 مهمتر هستند (Lopez et al., 2001). کمی پس از کشف آفلاتوکسین‌های جدا شده از مواد غذایی، محققین پیشنهاد کردند که احتمال وقوع باقیمانده‌های

^۲TLC (Rastogi et al., 2004) و ^۳HPLC (Rodríguez Velasco et al., 2003; Ivastava et al., 2001; Bakirci, 2001) می‌باشد.

با توجه به عوارض و مشکلات ناشی از بقایای سم آفلاتوکسین M1 در شیر و فرآورده‌های لبنی، کنترل و نظارت دوره‌ای شیر خام امری ضروری است. هدف از این مطالعه، غربالگری میزان سم آفلاتوکسین M1 در شیر خام تولیدی استان قزوین بروش الایزا و تایید موارد بالاتر از حد مجاز با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه برداری

در این تحقیق ۱۷۰ نمونه شیر خام از تانکرهای حمل شیر در کارخانجات لبنی، دامداری‌های صنعتی، مراکز جمع آوری شیر و سایر مراکز عرضه شیر و در فصل زمستان (بهمن ماه) جمع آوری گردید. هر یک از نمونه‌های اخذ شده از مراکز فوق بر مبنای یک بهر محاسبه گردیده است. نمونه‌های اخذ شده از مراکز جمع آوری شیر عموماً دامداری‌های کمتر از ۲۰ راس دام و نمونه‌های جمع آوری شده از مراکز عرضه شیر عموماً مغازه‌هایی را که بصورت روزانه اقدام به فروش شیر و در زمینه لبنی (ماست بندی، بستنی فروشی) فعالیت می‌کنند را شامل می‌شود. در مورد کارخانجات لبنی و گاوداری‌ها هر واحد بعنوان یک بهر تلقی گردیده است. از هر بهر یک نمونه و به میزان ۵۰ میلی لیتر شیر خام در ظروف مخصوص ۵۰ میلی لیتری استریل شرکت سوپا اخذ و در کنار یخ خشک و حداکثر ظرف مدت ۸-۶ ساعت (با توجه به دور بودن مراکز از آزمایشگاه) به آزمایشگاه منتقل و در تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. روش نمونه برداری بر اساس روش استاندارد ملی

اعتمادی که بتوانند تضمینی را در زمینه جلوگیری کامل از آلودگی‌های آفلاتوکسینی محصولات کشاورزی ارائه دهند وجود ندارند، اما به طور کلی فرآورده‌های سم زدایی شامل کاهش سم، تخریب ساختمانی سم یا غیر فعال سازی سموم آفلاتوکسینی می‌باشد (Samarajeewa et al., 1990). نتایج تحقیقات انجام شده نشان داده که یکی از مهم‌ترین شیوه‌ها در کاهش بروز اختلالات مربوط به سموم آفلاتوکسینی جلوگیری از ورود این سموم در شیر، گوشت و تخم مرغ با استفاده از مواد جاذب سم می‌باشد (Samarajeewa et al., 1990). آخرین ارزیابی حد مجاز آفلاتوکسین M1 توسط کمیته تخصصی (JECFA) در سال 2001 انجام پذیرفته است. براساس این ارزیابی‌ها با در نظر گرفتن حداکثر توان ایجاد سرطان و بالاترین میزان مصرف شیر بر اساس آمار مصرف سرانه سازمان بهداشت جهانی آلودگی شیر مابین حدود ۰/۵ و ۰/۰۵ ppb وجود داشته است.

بر اساس استاندارد FDA آمریکا و نیز استاندارد Codex Alimentarius حداکثر مجاز باقیمانده آفلاتوکسین M1 در شیر ۰/۵ و خوراک دام ۲۰ ppb می‌باشد (Lopez et al., 2001). برای اندازه گیری آفلاتوکسین، روش‌های متفاوت ایمونواسی و اندازه گیری کمی وجود دارند. استفاده از روش‌های ایمونواسی مانند ELISA^۱ برای انجام آزمون‌های غربالگری و نیز پایش در زمینه شیر و فرآورده‌های آن در سطح کارخانجات توصیه می‌شود. نمونه‌گیری از شیر برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین بسیار ساده است ولی مشکل عمده نحوه جداسازی این سم از شیر و فرآورده‌های آن می‌باشد (Bakirci, 2001; Ivastava et al., 2001; Martins et al., 2004). نکته مهم در زمینه استفاده از روش‌های ایمونواسی، انجام تایید آزمون با استفاده از روش‌های اندازه‌گیری کمی مانند (Park, 2002)

2. Thin-layer chromatography (TLC)
3. High-performance liquid chromatography (HPLC)

1. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)

نمونه برداری شیر موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران بود.

روش الیزا

نمونه‌ها در آزمایشگاه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس چربی رویی را به طور کامل به وسیله پیپت پاستور دور ریخته و مایع زیرین جهت انجام آزمایش AFM1 مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور از کیت الیزا ۹۶ تایی آفلاتوکسین M1 شرکت Euro-Clone که یک روش ایمنونوآسی آنزیمی رقابتی که بر پایه واکنش آنتی ژن آنتی بادی می‌باشد، استفاده گردید. چاهک های میکروپلیت با آنتی بادی ضد AFM1 پوشانده شده و با اضافه کردن AFM1 استاندارد یا موجود در نمونه شیر مکان‌های باند شده با آنتی بادی به طور نسبی به غلظت AFM1 اشغال و هر مکان خالی باقیمانده در مرحله بعد به وسیله توکسین لیبل شده آنزیم کونژوگه پر می‌شوند. سپس آنزیم کونژوگه باند نشده شسته شده و سوبسترای آنزیم و کروموزن به چاهک ها اضافه شده و سپس انکوبه شدند. با اضافه کردن عوامل متوقف کننده رنگ آبی به زرد تغییر می‌یابد. جذب در طول موج ۴۵۰ نانومتر در یک الیزا ریدر خوانده شد و پس از رسم منحنی غلظت سم آفلاتوکسین در نمونه‌ها محاسبه گردید.

روش HPLC

در این روش از کروماتوگرافی فاز معکوس با شناساگر فلورسنس ۲۴۷۵ WATER با تحریک پذیری ۳۶۰ نانومتر و با خروجی ۴۴۰ نانومتر استفاده گردید. ستون‌های مورد نیاز ODS (اکتا دسیل سیلان) ۲۵۰×۴/۶ میلی متر به اضافه ستون محافظ بودند. سرعت عبور فاز متحرک توسط پمپ WATER۱۵۲۵ به میزان ۰/۸ ml/min بود. قبل از انجام کار خطی بودن منحنی کالیبراسیون و پایداری سیستم کروماتوگراف چک شد. به دفعات زیاد غلظت ثابتی از آفلاتوکسین تزریق تا ارتفاع و سطح زیر منحنی ثابتی از سم با

تفاوت $\pm 5\%$ درصد به دست آمد. جهت ترسیم منحنی کالیبراسیون غلظت‌های متفاوت و متوالی ۱۰ و ۷/۵، ۵، ۲/۵، ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲، ۰/۱ نانوگرم بر میلی لیتر از محلول استاندارد آفلاتوکسین M1 تهیه و تزریق شد و با توجه به سطح زیر نمودار، منحنی کالیبراسیون ترسیم شد. با توجه به اینکه ۱۰۰ میکرولیتر از لایه میانی بدون چربی برای آنالیز لازم است، همانند روش الیزا، از هر نمونه ۵ میلی لیتر شیر برداشته و توسط سانتریفوژ یخچال‌دار، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور ۲۰۰۰ g و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید (نمونه های آماده شده را می‌توان تا زمان آنالیز در فریزر ۴۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد) سپس ۲۰۰ میکرولیتر از محلول آماده شده به دستگاه تزریق شد. برای صحت داده‌ها بعد از هر ۱۰ تزریق یک غلظت از محلول کالیبره تزریق شد. با توجه به سطح زیر منحنی پیک و قرار دادن در منحنی کالیبراسیون غلظت سم بر حسب نانوگرم بر میلی لیتر مشخص شد. غلظت واقعی سم آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های مثبت مشخص گردید. نمونه‌ها پس از تعیین غلظت در هر گروه با استفاده از نرم افزار SPSS ویراست ۱۸ مورد تجزیه و تحلیل آماری ANOVA قرار گرفتند.

نتایج

در این مطالعه مجموعاً ۱۷۰ نمونه شیر خام از ۴ منبع تولید و عرضه شیر استان شامل کارخانجات لبنی، گاوداری‌های صنعتی، مراکز جمع آوری شیر و مراکز عرضه شیر فله ای به ترتیب ۱۲، ۸۰، ۲۳ و ۵۵ نمونه اخذ و در مرحله اول جهت ارزیابی کلی وجود سم آفلاتوکسین، توسط روش الیزا مورد غربالگری قرار گرفتند که در این مرحله میانگین AFM1 در گاوداری‌های صنعتی ۰/۲۱۵، کارخانجات لبنی ۰/۲۶۸، مراکز جمع آوری شیر ۰/۷۳۴ و مراکز عرضه شیر ۰/۴۰۹ بر حسب نانوگرم در میلی لیتر (ng/ml) یا ppb مشخص گردید. از این میان بیشترین آلودگی از نظر میزان سم، مربوط به شیرهای اخذ شده از مراکز جمع

شده از مراکز عرضه شیر فله ای با ۵۲/۷۲٪ آلودگی ($P < 0/05$) و کمترین آلودگی مربوط به شیرهای اخذ شده از کارخانجات لبنی با ۸/۳۳٪ درصد آلودگی می باشد ($P < 0/05$) (جدول ۱).

آوری شیر با میانگین ۰/۷۳۴ ppb و کمترین آلودگی مربوط به شیرهای اخذ شده از گاوداری های صنعتی با میانگین ۰/۲۱۵ ppb بود و این درحالی است که بیشترین آلودگی از نظر درصد آلودگی بالاتر از حد مجاز در نمونه های اخذ شده مربوط به شیرهای اخذ

جدول ۱- میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه های اخذ شده

محل نمونه برداری	تعداد نمونه	فراوانی مثبت	درصد مثبت	SD \pm میانگین (ppb)	حد پایین (ppb)	حد بالا (ppb)	موارد بالاتر از حد مجاز	درصد موارد بالاتر از حد مجاز
کارخانجات لبنی	۱۲	۱۲	۱۰۰	۰/۲۶۸ \pm ۰/۰۲۴	۰/۰۲۸۱	۰/۴۸۶	۱	۸/۳۳
گاوداری های صنعتی	۸۰	۸۰	۱۰۰	۰/۲۱۵ \pm ۰/۰۵۳	۰/۰۱۴۹	۰/۷۱۵	۱۸	۲۲/۵۲
مراکز جمع آوری شیر	۲۳	۲۳	۱۰۰	۰/۷۳۴ \pm ۰/۰۷۱	۰/۰۳۴۷	۱/۱۱۸	۹	۳۹/۱۳
مراکز عرضه شیر فله ای	۵۵	۵۵	۱۰۰	۰/۴۰۹ \pm ۰/۰۶۷	۰/۰۱۸۳	۰/۹۲۶	۲۹	۵۲/۷۲

در آنها توسط روش الیزا بیشتر از حد از مجاز شناسایی شده بود جهت تایید نهایی توسط روش HPLC مورد سنجش قرار گرفتند که از این میزان در ۳۳/۵۲ درصد نمونه ها مقادیر بالاتر و ۶۶/۴۸ درصد نمونه ها مقادیر پائین تر از حد مجاز استاندارد ایران (۰/۵) نانوگرم بر میلی لیتر) به تایید رسید (جدول ۲).

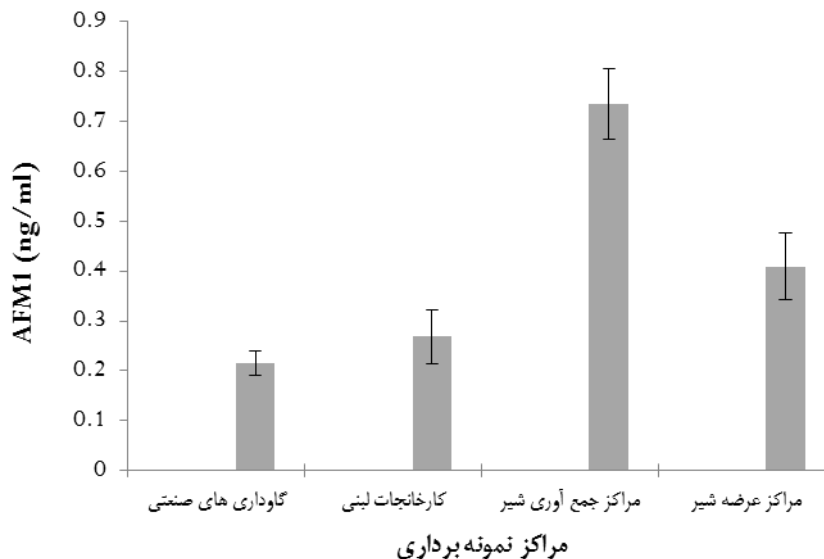
در مجموع میزان آلودگی نمونه شیرهای جمع آوری شده استان در فصل زمستان (بهمن ماه) به سم آفلاتوکسین M1 (AFM1) ۱۰۰ درصد بود به عبارت دیگر در همه نمونه شیرهای اخذ شده سم آفلاتوکسین به مقدار متفاوت شناسایی گردید. سپس در مرحله دوم، تمامی نمونه هایی که میزان سم آفلاتوکسین M1

جدول ۲- جمع و میانگین آفلاتوکسین M1 در نمونه های اخذ شده

تعداد نمونه	فراوانی مثبت	درصد مثبت	میانگین کل	میانگین حد پایین	میانگین حد بالا	موارد بالاتر از حد مجاز	درصد موارد بالاتر از حد مجاز
۱۷۰	۱۷۰	۱۰۰	۰/۴۰۶	۰/۰۲۳۹	۰/۸۱۱	۵۷	۳۳/۵۲

شیر، شاخص مناسبی برای نشان دادن وضعیت دامداری های سنتی می باشد لذا این میزان آلودگی نشان عدم ذخیره صحیح خوراک در فصل زمستان در مجامع روستایی می باشد.

با توجه به نتایج بدست آمده میزان آلودگی شیر به سم آفلاتوکسین M1 در بعضی نمونه های مربوط به مراکز جمع آوری شیر به بیش از ۲/۲۳ برابر حد مجاز (۰/۵) نانوگرم بر میلی لیتر (شناسایی گردید (نمودار ۱) و از آنجائیکه نمونه های اخذ شده از مراکز جمع آوری



نمودار ۱- مقادیر میانگین آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های جمع آوری شده

بحث

آلودگی را نشان داده‌اند. به طوری که کریم و همکاران (۱۳۷۸)، در مطالعه‌ای ۸۲/۲ درصد و در مطالعه‌ای دیگر ۹۲/۳ درصد نمونه‌های شیر تهران را آلوده به آفلاتوکسین M1 گزارش کردند و مطالعه دیگری نشان داد که ۷۶٪ نمونه‌های شیر آزمایش شده به این میکوتوکسین آلوده هستند (Kamkar, 2005).

آلودگی غذای دام به آفلاتوکسین B1 (پیش ساز آفلاتوکسین M1) مهم‌ترین عامل آلودگی شیر به آفلاتوکسین M1 محسوب می‌شود و حضور آفلاتوکسین B1 در علوفه خود نشانگر فراهم بودن شرایط برای رشد قارچ‌ها و تولید این میکوتوکسین 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 در نتیجه حضور آفلاتوکسین M1 در شیر را به دنبال دارد. از طرفی پتانسیل خطرات احتمالی آفلاتوکسین‌ها بویژه B1 و M1 برای انسان در اثر محصولات کشاورزی و مصرف شیر توسط چندین محقق به اثبات رسیده است (Van Egmond, 1983). خطرات آن در سلامت انسان به خصوص در

مایکوتوکسین‌ها مواد بیولوژیکی هستند که به دنبال رشد قارچ‌های توکسین‌زا در مواد غذایی، تولید و کیفیت بهداشتی آن‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بنابراین برای تامین سلامت مصرف کنندگان لازم است وجود و مقدار مایکوتوکسین‌های مختلف در مواد غذایی به طور دائم اندازه گیری شده و برای به حداقل رساندن آنها در زنجیره غذایی برنامه ریزی شود. نتایج این مطالعه نشان داد که ۱۰۰ درصد نمونه شیرهای تهیه شده برای این مطالعه، کم و بیش به آفلاتوکسین M1 آلودگی دارند که از این میان بیشترین آلودگی مربوط به نمونه‌های مراکز جمع آوری شیر با میانگین ۰/۷۳۴ ppb و کمترین آلودگی مربوط به نمونه‌های گاو‌داری‌های صنعتی با میانگین ۰/۲۱۵ ppb بود. و این درحالی است که بیشترین آلودگی از نظر درصد آلودگی بالاتر از حد مجاز در نمونه‌های اخذ شده مربوط به شیرهای اخذ شده از مراکز عرضه شیر فله‌ای با ۵۲/۷۲ درصد آلودگی و کمترین آلودگی مربوط به شیرهای اخذ شده از کارخانجات لبنی با ۸/۳۳ درصد آلودگی بود. 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

این موضوع برای بهداشت عمومی مسئله جدی است. شیر و محصولات شیر باید به طور مداوم حداقل سالی دو بار از نظر آلودگی آفلاتوکسین M1 مورد بررسی قرار گیرند. در کنار این، پایین بودن میزان آفلاتوکسین B1 در غذای حیوانات شیری اهمیت دارد و برای نیل به این هدف چنین بر می آید که سازمان‌های مرتبط با تولید شیر، بویژه سازمان دامپزشکی کشور می‌بایست با تدابیر ویژه و آموزش‌های لازم به تولیدکنندگان در جهت هرچه بهتر شدن کیفیت و کاهش میزان مایکوتوکسین‌ها و سموم کشاورزی در شیر خام اهتمام بیشتری به خرج دهند و شیرهای خام تولیدی از نظر میزان آفلاتوکسین‌ها بویژه M1 مورد بررسی قرار گرفته و شیرهای آلوده پس از شناسایی معدوم گردند.

منابع

1. کریم، گیتی و بکایی، سعید. (۱۳۷۸). مطالعه میزان آلودگی شیرهای تحویلی به کارخانجات شیر پاستوریزه تهران به آفلاتوکسین M1 با استفاده از روش الیزا. مجله پژوهش و سازندگی، سال سیزدهم، شماره ۴۲-۴۰، صفحه ۳۲-۴۴.
2. Aycicek, H., Aksoy, A., and Saygi, S. 2005. Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. Food Control. 16: 263-266.
3. Bakirci, I. 2001. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. Food Control. 12: 47-51.
4. D'Mello, J.P.F., and Macdonald, A.M.C. 1997. Mycotoxins. Anima Feed Sci Technol. 69: 155-166.
5. Gürbay, A., Aydın, S., Girgin, G., Engin, A.B., and Şahin, G., 2006. Assessment of aflatoxin M1 levels in milk in Ankara, Turkey. Food Control. 17: 1-4.

سرطان کبد از طریق شیر و محصولات شیری بسیار با اهمیت است. آفلاتوکسین M1 شیر پاستوریزه تجاری در یونان با استفاده از ELISA و HPLC مورد سنجش قرار گرفته است و از ۸۱ نمونه شیر ۳۲ مورد شیر بین ۲-۲/۵ نانوگرم بر لیتر و ۳۱ مورد بین ۱-۰/۵ نانوگرم بر لیتر و ۹ مورد بیش از ۵ نانوگرم بر لیتر آفلاتوکسین داشتند و ۹ مورد شیر نیز بدون آفلاتوکسین بودند (Markaki and Melissari, 1997) و همچنین در مطالعه دیگری شیرهای سر شیر گرفته یا نیمه سر شیر گرفته آلودگی کمتری نسبت به همان شیرها داشتند. در مطالعه Gurbay به وسیله HPLC از ۲۷ نمونه شیر ۵۹/۳ درصد آلوده بودند که فقط یک نمونه بیش از حد مجاز اتحادیه اروپا و کودکس الیمانتاریوس بود (Gürbay et al., 2006). در بررسی دیگری در شهر سراب از ۱۱۱ نمونه شیر خام ۸۵ مورد (۷۶/۶٪) با غلظت بین ۰/۰۱۵ و ۰/۲۸ نانوگرم بر میلی لیتر آلودگی داشتند و میزان ۴۰ درصد نمونه‌های مثبت بالاتر از حد مجاز اتحادیه اروپا (۰/۰۵ نانوگرم بر میلی لیتر) بودند (Kamkar, 2005). اگر چه پیشگیری از تشکیل آفلاتوکسین در جیره غذایی قبل از برداشت محصول در مزارع به علت رطوبت و حرارت بالا، مشکل می‌باشد، ولی با ذخیره صحیح و مناسب این محصولات در کاهش تولید آفلاتوکسین تا حد زیادی به نتایج مفیدی می‌توان دست یافت (Van Egmond, 1993).

شیر و محصولات شیری غذای اصلی انسان به خصوص بچه‌ها و کودکان است و اهمیت آن در کودکان بسیار بیشتر است زیرا نسبت به عوارض آفلاتوکسین حساس تر بوده و توانایی آنها برای تغییر در ماهیت ترکیبات سرطان‌زا کندتر از بزرگسالان است. این محصولات ممکن است آلوده و مخاطره انگیز شوند. مقرراتی در خصوص کاهش آلودگی جیره غذایی دام به کپک‌های مولد آفلاتوکسین تعبیه شده‌اند. بر اساس نتایج این مطالعه، میزان آفلاتوکسین در شیر بالا بود و

6. Ivastava, V.P., Bu-Abbas, A., Al-Johar, W., Al-Mufti, S., and Siddiqui, M.K.J. 2001. Aflatoxin M₁ contamination in commercial samples of milk and dairy products in Kuwait. *Food Add Contam.* 18: 993-997.
7. Kamkar, A. 2005. A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control.* 16: 593-599.
8. Lopez, C., Ramos, L., Ramadan, S., Bulacio, L., and Perez, J. 2001. Distribution of aflatoxin M₁ in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Intl J Food Microbiol.* 64: 211-215.
9. Markaki, P., and Melissari, E. 1997. Occurrence of aflatoxin M₁ in commercial pasteurized milk determined with ELISA and HPLC. *Food Add Contam.* 14: 451-456.
10. Martins, M.L., Amp, X., and Martins, H.M. 2004. Aflatoxin M₁ in yoghurts in Portugal. *Intl J Food Microbiol.* 91: 315-317.
11. Park, D. 2002. Effect of Processing on Aflatoxin, In: DeVries, J., Trucksess, M., Jackson, L. (Eds.) *Mycotoxins and Food Safety.* Springer, US.
12. Rastogi, S., Dwivedi, P.D., Khanna, S.K., and Das, M. 2004. Detection of Aflatoxin M₁ contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control.* 15: 287-290.
13. Rodríguez Velasco, M.L., Calonge Delso, M.M., and Ordóñez Escudero, D. 2003. ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M₁ in raw cow's milk. *Food Add Contam.* 20: 276-280.
14. Samarajeewa, U., Sen, A.C., Cohen, M.D., and Wei, C.I. 1990. Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds by Physical and Chemical Methods. *J Food Protect.* 53: 489-501.
15. van Egmond, H.P. 1983. Mycotoxins in dairy products. *Food Chem.* 11: 289-307.
16. Van Egmond, H.P. 1993. Rationale for regulatory programmes for mycotoxins in human foods and animal feeds. *Food Add Contam.* 10: 29-36.
17. Van Egmond, H.P. 1995. Mycotoxins: Regulations, quality assurance and reference materials. *Food Add Contam.* 12: 321-330.