DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207 Published by Vesnu Publications

میزان آلودگی شیر خام و پاستوریزه توزیع شده در بازار اصفهان به آفلاتوکسین M_1

محسن راستی اردکانی[1]، احمد رضا رنجبری[1]، محمد رضا حیدری[2]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: با توجه به خطرات مایکوتوکسین‌ها برای سلامت عمومی جامعه و ضرورت کنترل مداوم آن‌ها در محصولات کشاورزی، در مطالعه حاضر میزان آلودگی شیر پاستوریزه و شیر خام توزیعی در سطح شهر اصفهان به آفلاتوکسین M_1 مورد سنجش قرار گرفت.

روش‌ها: ۱۹ نمونه شیر خام و ۸۹ نمونه شیر پاستوریزه از فروشگاه‌های سطح شهر جمع‌آوری شد و میزان آفلاتوکسین M_1 در آن‌ها با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (High-performance liquid chromatography یا HPLC) تعیین گردید.

یافته‌ها: آلودگی شیرهای تولید داخل و خارج استان با آفلاتوکسین M_1 در مقایسه با استاندارد رسمی کشور، کمتر از حد مجاز گزارش شد، اما در مقایسه با استاندارد رسمی اروپا، ۲/۶۳ درصد شیرهای تولید داخل استان و ۳۷/۵۰ درصد شیرهای تولید خارج استان به آفلاتوکسین M1 آلودگی داشتند. میانگین آلودگی شیرهای تولید داخل و خارج استان (مجموع شیر پاستوریزه و خام)، به ترتیب ۰/۰۱۴ ± ۰/۰۲۰ و ۰/۰۲۰۰ ± ۰/۰۴۰ میکروگرم بر لیتر تعیین گردید. میانگین غلظت آفلاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه، ۰/۰۱۹ ± ۰/۰۳۰ میکروگرم بر لیتر به دست آمد که به طور معنی‌داری از استانداردهای رسمی ایران، آمریکا و اتحادیه اروپا (به ترتیب ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر) پایین‌تر بود. میانگین غلظت آلودگی شیر خام نیز ۰/۰۱۱ ± ۰/۰۰۸ میکروگرم بر لیتر بود که نه تنها به طور معنی‌داری از استاندارد اروپا کمتر می‌باشد، بلکه از آلودگی شیر پاستوریزه توزیع شده در سطح شهر نیز کمتر بود. همچنین، میزان آلودگی شیر پاستوریزه تولید داخل استان به طور معنی‌داری از آلودگی شیرهای وارداتی به استان کمتر بود.

نتیجه‌گیری: در زمان انجام پژوهش، میزان آلودگی شیرهای توزیع شده در سطح شهر اصفهان به آفلاتوکسین M_1، سلامت عمومی جامعه را با تهدیدی مواجه نمی‌کند، اما همچنان بر لزوم نظارت دقیق آن توسط ادارات و سازمان‌های ذی‌ربط تأکید می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: آفلاتوکسین M_1، کروماتوگرافی مایع، شیر، ایران

ارجاع: راستی اردکانی محسن، رنجبری احمد رضا، حیدری محمد رضا. **میزان آلودگی شیر خام و پاستوریزه توزیع شده در بازار اصفهان به آفلاتوکسین M_1.** مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۷؛ ۱۴ (۲): ۲۷۱-۲۶۵

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۴/۲۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۷/۶ تاریخ چاپ: ۱۳۹۷/۴/۱۵

مقدمه

شیر از جمله کامل‌ترین مواد غذایی محسوب می‌شود و آلودگی این ماده و یا فرآورده‌های آن، خطری جدی برای سلامت عمومی جامعه قلمداد می‌گردد (۱) و این مسأله به سلامت دام‌ها و تأمین شیر سالم و عاری از آلودگی از آن‌ها بستگی دارد (۲). از جمله مهم‌ترین این آلودگی‌ها می‌توان به آفلاتوکسین‌ها اشاره نمود (۱). مصرف خوراک دام آلوده به آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 توسط گاوهای شیری، سبب هیدروکسیله شدن این سموم در کبد (۳) و تبدیل آن‌ها به آفلاتوکسین‌های M_1 و M_2 می‌شود که در شیر قابل ردیابی است (۲). در صورتی که خوراک دام به آفلاتوکسین B_1 آلوده باشد، ترشح آفلاتوکسین M_1 در شیر تا حدودی سریع است؛ به طوری که آفلاتوکسین M_1، ۱۲ تا ۲۴ ساعت پس از مصرف اولین جیره غذایی حاوی آفلاتوکسین B_1، در شیر ترشح می‌شود. آفلاتوکسین‌های B_1 و M_1 توسط دفتر بین‌المللی تحقیقات سرطان، به عنوان سرطان‌زاهای انسانی طبقه‌بندی شده‌اند (۴). تا هنگامی که آلودگی آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام در حد ۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم خوراک باشد، می‌توان انتظار داشت که میزان آفلاتوکسین M_1 شیر آن دام در حد مجاز است، اما اگر آفلاتوکسین B_1 در خوراک دام بین ۳۰۰-۲۰ میکروگرم بر کیلوگرم خوراک باشد، آن خوراک برای استفاده در تغذیه گاوهای شیری مناسب نیست و باید در خوراک سایر دام‌ها مانند گاوهای گوشتی استفاده گردد (۵).

روش‌های مختلفی در زمینه کاهش سم آفلاتوکسین M_1 به کار برده شده است که بررسی این روش‌ها نشان می‌دهد سم آفلاتوکسین M_1 نسبت به حرارت، پاستوریزاسیون، اتوکلاو و دیگر روش‌های فرآوری غذایی مقاومت نشان می‌دهد و این اقدامات در کاهش آن بی‌تأثیر است (۶). در صورتی که برای کاهش میزان آفلاتوکسین چاره مؤثری اتخاذ نشود، مصرف محصولات آلوده به آن تهدیدی جدی برای سلامت مصرف‌کنندگان خواهد بود (۷). کمیسیون غذایی Codex (Codex general standard)، حداکثر سطح آفلاتوکسین M_1 (The codex maximum level) در شیر را ۰/۵ میکروگرم بر لیتر اعلام نموده است (۸). کشورهای عضو اتحادیه اروپا و همچنین، کشورهایی که به‌تازگی به عضویت این اتحادیه درآمده‌اند، حداکثر سطح آفلاتوکسین M_1 را

۱- مربی، بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران
۲- دکتری، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران
نویسنده مسؤول: محسن راستی اردکانی
Email: m.rasti@areeo.ac.ir

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]
[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]

۰/۰۵ میکروگرم بر کیلوگرم اعلام کرده‌اند (۹). طبق استاندارد آمریکا، میزان آفلاتوکسین M_1 نباید از ۰/۵ میکروگرم بر لیتر بیشتر باشد (۱۰).

سازمان استاندارد ایران در استاندارد شماره ۵۹۲۵ (اصلاحیه شماره ۱)، بیشینه رواداری (حد مجاز) آفلاتوکسین M_1 در انواع شیرخام، شیر حرارت دیده (پاستوریزه) و فرادما و انواع شیر طعم‌دار را ۰/۱ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش نمود (۱۱). به دلیل این که آفلاتوکسین M_1 آلاینده‌ای با شیوع جهانی می‌باشد، بسیاری از کشورها حدود مجازی بین ۰/۵ تا ۰/۰۵ میکروگرم برکیلوگرم (معادل ۵۰ تا ۵۰۰ نانوگرم بر کیلوگرم) را برای محصولات لبنی تولیدی خود در نظر گرفته‌اند (۱۲). روش‌های تشخیص آفلاتوکسین M_1 در شیر را می‌توان به دو گروه اصلی «روش‌های کروماتوگرافی و روش‌های ایمونوشیمیایی» تقسیم نمود (۱۳). از میان روش‌های کروماتوگرافی، روش‌های کروماتوگرافی لایه نازک (Thin-layer chromatography یا TLC) و کروماتوگرافی مایع با کارکرد بالا (High-performance liquid chromatography یا HPLC) و در میان روش‌های ایمونوشیمیایی نیز روش‌های Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و Radioimmunoassay (RIA) نسبت به سایر روش‌های اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها متداول‌تر می‌باشد (۱۴).

نتایج مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین روش‌های ELISA و HPLC برای تشخیص مایکوتوکسین‌ها وجود ندارد (۱۵) و نتایج روش ELISA قابل اطمینان می‌باشد. به طور کلی، روش ELISA برای غربالگری، روش آسان و کم‌هزینه‌ای است، اما محدودیت‌هایی را به دنبال دارد. توصیه می‌شود در کنار روش ELISA (حداقل برای تعداد محدودی از نمونه‌ها)، از روش تأییدی HPLC استفاده شود؛ اگرچه این امر در مواردی به علت عدم وجود دستگاه و هزینه بالا به آسانی امکان‌پذیر نیست (۱۵).

آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 دارای شیوع جهانی است. نتایج پژوهش تاج‌کریمی و همکاران با استفاده از روش HPLC نشان داد که میزان آفلاتوکسین M_1 شیر در ۱۴ استان کشور در فصل زمستان بیشتر از فصل تابستان می‌باشد. میانگین آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در این استان‌ها، ۰/۰۵۸ ± ۰/۰۵۳ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش گردید که از استاندارد رسمی کشور پایین‌تر است (۱۶). بهفر و همکاران میانگین آلودگی ۱۰۰ نمونه شیر پاستوریزه اهواز را با استفاده از روش HPLC، ۰/۰۰۲۷ میکروگرم بر لیتر ذکر کردند که بسیار کمتر از استاندارد رسمی کشور و همچنین، اتحادیه اروپا می‌باشد (۱۷). در تحقیق حاضر، استاندارد رسمی کشور معادل استاندارد اروپا (۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر) در نظر گرفته شد.

Bellio و همکاران با انجام مطالعه‌ای به این نتیجه رسیدند که ۱ درصد از ۱۶۶۸ نمونه شیر آزمایش شده در مناطق شمالی کشور ایتالیا، بیش از استاندارد رسمی اروپا با آفلاتوکسین M_1 آلودگی داشتند (۱۳). Galvano و همکاران در ادامه بررسی‌های خود به منظور تعیین میزان آلودگی محصولات لبنی به آفلاتوکسین M_1 در چهار شهر کشور ایتالیا، میزان آلودگی ۷۹ نمونه را کم (بین ۱ تا ۱۰ نانوگرم بر لیتر) و ۸ درصد از نمونه‌ها را بین ۱۰ تا ۵۰ نانوگرم بر لیتر گزارش نمودند (۱۸). روش مورد استفاده در مطالعه آن‌ها، HPLC بود و وضعیت آلودگی نسبت به مطالعات دوره‌های پیشین در سال‌های ۹۵ و ۹۶ میلادی بهتر ارزیابی گردید.

احمدزاده و همکاران در پژوهش مروری خود با هدف بررسی فراوانی آفلاتوکسین M_1 در شیر و سایر فرآورده‌های لبنی، نتیجه‌گیری کردند که روش غالب در اندازه‌گیری آفلاتوکسین در ایران، استفاده از کیت‌های تجاری ELISA می‌باشد و در میان محصولات لبنی شیر بیشتر مطالعه صورت گرفته است و بر اساس این مطالعات، میزان آلودگی شیر بیشتر از استاندارد رسمی اروپا برآورد گردید (۱۹).

استان اصفهان با تولید بیش از یک میلیون تن شیر در سال ۱۳۹۴، بزرگ‌ترین استان تولیدکننده شیر کشور می‌باشد (۲۰) و شیر تولیدی استان به سایر نقاط کشور صادر می‌گردد. با توجه به اهمیت شیر در اقتصاد کشاورزی استان و همچنین، ضرورت سلامت آن برای مصرف‌کننده و درخواست سازمان جهاد کشاورزی استان اصفهان برای آگاهی از وضعیت سلامت شیر استان، تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان آلودگی شیر خام و شیر پاستوریزه به آفلاتوکسین M۱ انجام شد.

روش‌ها

با توجه به ظرفیت اسمی تولید و میزان پخش محصول هر کارخانه در سطح شهر، تعدادی از آنان انتخاب و با توجه به بالاتر بودن احتمال آلودگی شیر در فصول سرد (۱۶)، نمونه‌برداری در اواخر اسفند سال ۱۳۹۳ و اوایل فروردین سال ۱۳۹۴ از فروشگاه‌های سطح شهر صورت گرفت. نمونه‌ها به روش نمونه‌گیری احتمالی طبقه‌بندی شده انتخاب شدند که بر اساس درصد توزیع و پراکنش توزیع شیر، تعداد نمونه برای هر کارخانه مشخص و نمونه‌برداری انجام شد و در مجموع، ۸۹ نمونه شیر پاستوریزه و ۱۹ نمونه شیر خام جمع‌آوری گردید. برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌ها، روش HPLC و ستون ایمونوافینیتی مورد استفاده قرار گرفت. روش انجام و موارد مورد نیاز آزمایش در ادامه آمده است.

ستون فاز معکوس C_{18} با قطر ذرات ۵ میکرومتر همراه با ستون محافظ (شرکت Waters، آمریکا)

فاز متحرک شامل استونیتریل: متانول: آب با نسبت ۶۰:۲۰:۲۰

سرعت جریان: یک میلی‌لیتر در دقیقه، حجم تزریق ۱۰۰ میکرولیتر و شناساگر فلورسانس با طول موج ۳۶۰ نانومتر

همه مواد مورد استفاده در مطالعه حاضر از شرکت Merck آلمان تهیه شد. برای انجام آزمون روی نمونه‌ها، ابتدا ۱۰۰ میلی‌لیتر از شیر مایع به لوله آزمایش منتقل و سپس با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه با دمای ۴ درجه سلسیوس و دو بار متوالی سانتریفوژ گردید. سپس لایه چربی از روی شیر جدا و از شیر بدون چربی به دست آمده برای انجام مراحل بعدی آزمایش استفاده شد.

در مرحله بعدی، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول نمکی بافر فسفات به طور کامل از ستون ایمنوافینیتی آفلاتوکسین M_1 عبور داده شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر از شیر بدون چربی از ستون عبور داده شد و محلول به دست آمده از این ستون نیز با سرعت ۱ تا ۲ قطره در هر ثانیه از ستون عبور داده شد. این عمل برای بار دوم نیز تکرار گردید. سپس از ستون جریان ملایم هوا برای خشک شدن ستون استفاده گردید. پس از آن، ۱ میلی‌لیتر استونیتریل به ستون انتقال یافت و با سرعت یک قطره در هر ۲ تا ۳ ثانیه عبور داده شد و در ظرف ۴ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید. این کار در مرحله بعد با ۱/۵ میلی‌لیتر استونیتریل صورت گرفت. این ظرف در سانتریفوژ تحت خلأ با دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شد و به ماده به دست آمده یک میلی‌لیتر فاز متحرک افزوده شد.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]
[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]

جدول ۱. میانگین و درصد فراوانی آلودگی نمونه‌های شیر خام و پاستوریزه به آفلاتوکسین M_1 درانواع شیر توزیع شده در سطح شهر

کد کارخانه	تعداد	درصد فراوانی شیرهای آلوده در مقایسه با استاندارد رسمی ایران*	درصد فراوانی شیرهای آلوده در مقایسه با استاندارد رسمی اروپا**	میانگین ± انحراف معیار (میکروگرم در لیتر)
۱	۱۸	۰	۶۱/۱	$^{\#}$۰/۰۵۰ ± ۰/۰۱۸
۲	۹	۰	۰	$^{\#\#}$۰/۰۲۰ ± ۰/۰۰۴
۳	۱۴	۰	۰	$^{¥}$ و $^{\#\#}$۰/۰۲۰ ± ۰/۰۰۷
۴	۱۱	۰	۹/۱	$^{\#\#}$۰/۰۳۰ ± ۰/۰۲۱
۵	۳۷	۰	۵/۴	$^{\#\#}$۰/۰۳۰ ± ۰/۰۱۵
خام	۱۹	۰	۰	$^{¥}$۰/۰۰۸ ± ۰/۰۱۰
مقدار χ^2			۴۵/۳	-
مقدار P			< ۰/۰۰۱	< ۰/۰۵۰

* حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد رسمی کشور، ۰/۱ میکروگرم در لیتر می‌باشد. ** حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد رسمی اروپا، ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر شیر می‌باشد.
علایم غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

انـدازه‌گیـری آفلاتوکسـین M_1 بـا اسـتفاده از دسـتگاه HPLC (شـرکت Waters، آمریکا) با ستون فاز معکوس C_{18} و پس از آماده‌سازی نمونه‌ها طبـق روش سازمان استاندارد ایران انجام گرفت (۶). میـزان بازیافـت آفلاتوکسـین در شیر به طور متوسط ۹۰ درصد تعیین گردید. حد تشخیص دستگاه تا ۱۰ نـانوگرم بر کیلوگرم و دقت و صحت داده‌ها روزانه کنترل می‌شد.

روش آماری به صورت تصادفی و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون Duncan انجام گردید. جهت مقایسه بـا سـطح مجـاز (اسـتاندارد)، از آزمـون t استفاده شد. برای مقایسه میـزان فراوانـی داده‌هـای بـالاتر یـا پـایین‌تـر از حـد استاندارد نیز آزمون χ^2 مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها

جدول ۱، درصد فراوانی آلودگی شیرهای پاستوریزه تولید داخل استان و شیرهای وارداتی از سایر استان‌ها و همچنین، شیر خام توزیعی در سطح شهر اصفهان بـه آفلاتوکسین M_1 را در مقایسه با استاندارد رسمی کشـور و اسـتاندارد اروپـا (بـه ترتیب ۰/۱و ۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر) نشان می‌دهد. بر اسـاس داده‌هـا، آلـودگی تمام شیرهای جمع‌آوری شده، از استاندارد رسمی کشور کمتر بود. در مقایسـه بـا استاندارد اروپا، میانگین آلودگی تنها یک کارخانه از استاندارد اروپا بیشتر گـزارش شـد؛ هرچنـد ایـن اخـتلاف از لحـاظ آمـاری معنـی‌دار نبـود. همچنـین، تفـاوت معنی‌داری بین میانگین آلودگی شیر بعضی کارخانجات وجود داشت ($P < ۰/۰۵۰$). میزان آلـودگی شـیر خـام از آلـودگی شـیرهای پاسـتوریزه بـه طـور معنـی‌داری کمتر بود ($P < ۰/۰۵۰$).

چنانچه استاندارد رسمی آمریکا (۱۰) و Codex جهانی (۰/۵ میکروگرم بـر لیتر) (۸) ملاک مقایسه قرار گیرد، میزان آلودگی نمونه‌های شیر جمع‌آوری شـده در اصفهان بسیار پایین‌تر از این حد بود.

با وجود این که استان اصفهان بزرگ‌ترین اسـتان تولیدکننـده شـیر کشـور می‌باشد (۲۰)، بعضی از انواع شیر پاسـتوریزه از اسـتان‌هـای مجـاور و بـه ویـژه تهران، وارد و در سطح شهر توزیع مـی‌گـردد. هرچنـد میـزان آلـودگی شـیرهای وارداتی از استان‌های مجاور به آفلاتوکسین M_1 از استاندارد رسمی کشور کمتـر می‌باشد، اما آلودگی این نمونه‌ها به طور معنی‌داری از نمونـه‌هـای تولیـد داخـل استان بیشتر بود (جدول ۲) ($P < ۰/۰۵۰$).

میزان آلودگی انواع شـیر پاسـتوریزه و شـیر خـام بـه آفلاتوکسـین M_1 در جدول ۳ ارایه شده است که کمتر از استاندارد ایران و اروپا بود ($P < ۰/۰۵۰$).

میانگین آلودگی کل ۱۰۸ نمونه شیر جمـع‌آوری شـده بـه آفلاتوکسـین M_1، ۰/۰۲۰ ± ۰/۰۲۵ میکروگـرم در لیتـر بـه دسـت آمـد کـه ایـن میـانگین بـه طـور معنی‌داری از استانداردهای رسمی کشور، اروپا و Codex کمتر بود ($P < ۰/۰۵۰$).

کمیته تخصصی سـازمان خـوار و بـار و کشـاورزی سـازمان ملـل متحـد و سازمان بهداشـت جهـانی روی کنتـرل افزودنـی‌هـای مـواد غـذایی (۲۱) بـرای مصرف‌کنندگان اروپایی محصولات لبنی، مقـدار تقریبـی آفلاتوکسـین M_1 وارد شده به بدن را ۰/۱۱ نـانوگرم بـه ازای هـر کیلـوگرم وزن بـدن در روز تخمـین زده است.

جدول ۲. میانگین و درصد فراوانی آفلاتوکسین M_1 در انواع شیرهای خام و پاستوریزه تولید داخل استان و شیرهای وارداتی توزیع شده در سطح شهر

محل تولید	تعداد نمونه	درصد فراوانی شیرهای آلوده در مقایسه با استاندارد رسمی ایران*	درصد فراوانی شیرهای آلوده در مقایسه با استاندارد رسمی اروپا**	میانگین ± انحراف معیار (میکروگرم در لیتر)
داخل استان (شیر پاستوریزه و خام)	۷۶	۰	۲/۶	$^{\#}$۰/۰۲۰ ± ۰/۰۱۴
خارج استان	۳۲	۰	۳۷/۵	$^{¥}$۰/۰۴۰ ± ۰/۰۲۰

* حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد رسمی کشور، ۰/۱ میکروگرم در لیتر شیر می‌باشد. ** حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد رسمی اروپا، ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر شیر می‌باشد.
علایم غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]
[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]

جدول ۳. درصد فراوانی آفلاتوکسین M_1 در شیرهای خام و پاستوریزه

نوع شیر	تعداد	درصد فراوانی شیرهای آلوده در مقایسه با استاندارد رسمی ایران*	درصد فراوانی شیرهای آلوده در مقایسه با استاندارد رسمی اروپا**	میانگین ± انحراف معیار (میکروگرم در لیتر)
پاستوریزه	۸۹	۰	۱۵/۷۰	$^{\#}$۰/۰۳۰ ± ۰/۰۲۰
خام	۱۹	۰	۰	$^{¥}$۰/۰۰۸ ± ۰/۰۱۰
مقدار χ^2			۰/۰۶	
مقدار P			–	< ۰/۰۵۰

* حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد رسمی کشور، ۰/۱ میکروگرم در لیتر شیر می‌باشد. ** حد مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر طبق استاندارد رسمی اروپا، ۰/۰۵ میکروگرم در لیتر شیر می‌باشد.
علایم غیر مشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشد.

این مقدار از رابطه ۱ به دست می‌آید که در آن، تخمین مایکوتوکسین جذب شده بر حسب نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن فرد در هر روز، مقدار سم در شیر مصرفی روزانه بر حسب نانوگرم، شیر مصرفی بر حسب کیلوگرم در هر روز و وزن بدن بر حسب کیلوگرم می‌باشد و معیار، یک فرد بالغ ۶۰ کیلوگرمی در نظر گرفته می‌شود.

$$\text{تخمین آفلاتوکسین جذب شده} = \frac{\text{شیر مصرفی} \times \text{سم مقدار}}{\text{وزن بدن}} \qquad \text{رابطه ۱}$$

مصرف سرانه شیر در سال ۱۳۹۲ حدود ۱۰۲/۲۸ کیلوگرم (معادل ۰/۲۸ کیلوگرم در روز) در ایران برآورد شده است (۲۰). چنانچه میانگین آلودگی کل نمونه‌های شیر، ۰/۰۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم (معادل ۲۵ نانوگرم بر کیلوگرم) در نظر گرفته‌شود، این تخمین برای جمعیت کشور ایران ۰/۱۱ نانوگرم به ازای هر کیلو وزن بدن افراد بالغ می‌باشد.

بحث

بر اساس داده‌های جداول ۱ و ۲، متوسط آلودگی نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده از کارخانجات مختلف، از استاندارد رسمی کشور (۰/۱ میکروگرم بر لیتر) کمتر می‌باشد. بنابراین، از دیدگاه سازمان استاندارد کشور، منعی برای مصرف شیر تولیدی این کارخانجات وجود ندارد. در مقایسه با استاندارد اروپا (۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر)، حدود ۱۶ درصد از نمونه‌ها بیش از این استاندارد با آفلاتوکسین M_1 آلودگی داشتند؛ هرچند این اختلاف معنی‌دار نبوده است ($P < ۰/۰۵۰$). بررسی نتایج تحقیق حاضر با برخی مطالعات انجام شده در سایر نقاط دنیا مطابقت داشت. بر این اساس، شیرهای تولیدی کشور در مقایسه با کشور صربستان از وضعیت خوبی برخوردار هستند. بررسی آلودگی۴۲ نمونه شیر پاستوریزه و خام با آفلاتوکسین M_1 با استفاده از روش HPLC در این کشور نشان داد که ۷۶ درصد نمونه‌های شیر بیش از استاندارد رسمی اروپا به آفلاتوکسین M_1 آلودگی داشتند (۲۲). در فاصله بین سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۱۴ میلادی نیز ۱۶۶۸ نمونه شیر در مناطق شمالی ایتالیا با استفاده از روش‌های ELISA و HPLC مورد بررسی قرار گرفت که ۵۸ درصد از کل نمونه‌ها شیر خام بود و میزان آلودگی بین حداقل ۰/۰۰۲ ± ۰/۰۱۸ میکروگرم در لیتر تا حداکثر ۰/۰۲۷ ± ۰/۲۰۸ میکروگرم بر لیتر تعیین گردید و با وجود بالا بودن آلودگی تعدادی از نمونه‌ها، در مجموع کمتر از ۱ درصد بیش از حد استاندارد رسمی اروپا آلوده بودند (۱۳) که در مقایسه با اطلاعات پژوهش حاضر، وضعیت نسبی بهتری داشته‌اند، اما اگر مقدار ۰/۰۲ ± ۰/۰۳۰ میکروگرم بر لیتر به عنوان میانگین کلی آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در نظر گرفته شود، این میانگین به طور معنی‌داری از استاندارد رسمی اروپا (۰/۰۵ میکروگرم بر لیتر) کمتر است.

در تحقیق مشابهی در شهر اهواز، آلودگی ۱۰۰ نمونه شیر پاستوریزه به آفلاتوکسین M_1 با استفاده از روش HPLC، ۰/۰۰۲۷ میکروگرم بر لیتر تعیین شد که به طور معنی‌داری ($P < ۰/۰۵۰$) از استاندارد رسمی اروپا کمتر می‌باشد (۱۷) و با نتایج بررسی حاضر همخوانی داشت. بر اساس داده‌های جدول ۱، تفاوت معنی‌داری بین میزان آلودگی شیر تولیدی کارخانجات مختلف به آفلاتوکسین M_1 وجود دارد. با توجه به این که آفلاتوکسینM_1 به حرارت، پاستوریزاسیون، اتوکلاو و دیگر روش‌های عمل‌آوری مواد غذایی مقاومت نشان می‌دهد و این اقدامات درکاهش آن تأثیری ندارد (۶)؛ بنابراین، برخی اختلاف آلودگی معنی‌دار بین شیر تولیدی کارخانجات تولیدکننده را می‌توان ناشی از مدیریت واحدهای دامپروری طرف قرارداد با کارخانه دانست. نحوه خوراک‌دهی به دام، رطوبت نسبی محل تولید علوفه، زمان برداشت، نوع مواد تشکیل دهنده سیلو، میزان استفاده از علوفه سبز (یونجه) و موقعیت جغرافیایی (۱۶)، استفاده از ترکیبات جاذب سم (مانند بنتونیت و یا دیواره مخمر) می‌توانند بر روی میزان نهایی آفلاتوکسین M_1 در شیر مؤثر باشند. میزان بارندگی و رطوبت کم هوا در اصفهان و متداول بودن استفاده از ترکیبات آلی و معدنی جاذب سم در تقریباً تمامی گاوداری‌های صنعتی استان و تعدادی از گاوداری‌های نیمه صنعتی و فعالیت اتحادیه‌های دامپروری برای افزایش دانش دامداران، از جمله عوامل مؤثر در پایین بودن میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسینM_1 در این استان می‌باشد. در مطالعه مروری صادقی و همکاران نیز در میان شهرهای مختلف کشور، شیر خام تولیدی اصفهان با آلودگی متوسط ۱ نانوگرم بر لیتر، کمترین میزان آلودگی را به خود اختصاص داد (۱). در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که به طور کلی شیرهای تولید شده در اصفهان نسبت به شیرهای وارداتی از سایر استان‌ها، به طور معنی داری آلودگی کمتری دارند (جدول ۲).

همان‌گونه که داده‌های جدول ۱ نشان داد، به طور کلی آلودگی شیر خام نه تنها به طورمعنی‌داری از شیر پاستوریزه کمتر است، بلکه کمتر از استاندارد سخت‌گیرانه اروپا نیز می‌باشد ($P < ۰/۰۵۰$). لازم به ذکر است که جمع‌آوری شیر خام از گاوداری‌های حومه اصفهان به طور تصادفی و مستقل از ارتباط احتمالی برای فروش شیر به کارخانجات شیر پاستوریزه انجام گرفته است. در هر صورت، نمونه‌های شیر پاستوریزه نیز کمتر از استاندارد رسمی کشور آلوده بودند ($P < ۰/۰۵۰$). تمام واحدهای دامداری فوق از نظرات و توصیه‌های کارشناسی مدیریت جهاد کشاورزی شهرستان استفاده می‌نمودند (این توصیه‌ها اغلب شامل

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]
[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]

نظارت بر خرید خوراک دام با کنترل دایمی میزان رطوبت خوراک دام که باید کمتر از ۱۴ درصد باشد، نگهداری خوراک دام در انبارهای مسقف، خرید اقلام خوراک دام از منابع معتبر داخلی و یا خارجی، کنترل سطح آلودگی اقلام خوراک دام به ویژه ذرت، سویا، انواع کنجاله با آفلاتوکسین B_1 در آزمایشگاه‌های تحت نظارت اداره کل دام‌پزشکی و در صورت لزوم استفاده از انواع ترکیبات جاذب سم و کنترل جوندگان و پرندگان در انبار خوراک می‌باشد). شاید بتوان میزان کم آفلاتوکسین M_1 در این واحدها را ناشی از این مسأله دانست.

بر طبق رابطه ۱، مقدار تقریبی آفلاتوکسین M_1 جذب شده برای جمعیت کشور ایران، روزانه ۰/۱۱ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بالغین تخمین زده شده است. این مقدار برای جمعیت بزرگسال فرانسه ۰/۰۱ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم، برای اسپانیا ۰/۳۰۵ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، برای جمعیت صربستان ۱/۴ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و برای مراکش ۳/۲۶ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز محاسبه شده است که به جز فرانسه، بقیه کشورها در وضعیت مناسبی قرار ندارند (۲۲). مصرف سرانه شیر در سال ۱۳۹۲ حدود ۱۰۲/۲۸ کیلوگرم (معادل ۰/۲۸ کیلوگرم در روز) در ایران برآورد شده است (۲۰). چنانچه میانگین آلودگی کل نمونه‌های شیر، ۰/۰۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم (معادل ۲۵ نانوگرم بر کیلوگرم) در نظر گرفته شود، این تخمین برای جمعیت کشور ایران حدود ۰/۱۱ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بالغین می‌باشد که با استانداردهای جهانی مطابقت دارد (۲۱).

برخی تحقیقات علمی، میزان حد قابل تحمل روزانه (TDI یا Tolerable daily intake) آفلاتوکسین را ۰/۲ نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز گزارش نموده‌اند (۲۳)، اما با وجود خطرات سرطان‌زایی آفلاتوکسین، کمیته تخصصی سازمان خوار و بار و کشاورزی سازمان ملل متحد و سازمان بهداشت جهانی روی کنترل افزودنی‌های مواد غذایی حدی را به عنوان حد قابل تحمل روزانه برای آفلاتوکسین M_1 اعلام ننموده‌اند، اما بر این نکته تأکید دارند که مقادیر حتی کمتر از یک نانوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز می‌تواند احتمال بروز سرطان کبد را به دنبال داشته باشد (۲۲). بدیهی است که چنانچه مصرف سرانه شیر در کشور افزایش یابد، میزان ورود سم به بدن افزایش پیدا می‌کند، مگر این که میزان آفلاتوکسین شیر بیش از این مقدار کاهش یابد.

با توجه به افزایش مصرف شیر توسط اطفال و حساسیت بیشتر این گروه از جامعه، شیر مورد استفاده اطفال و یا شیر مورد مصرف برای تولید شیر خشک باید دارای کمترین میزان آلودگی به آفلاتوکسین M_1 باشد.

چنانچه مطالعه حاضر در فصول مختلف انجام می‌شد، امکان بررسی تأثیر فصل روی میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 قابل انجام بود که به علت کمبود اعتبارات و مدت زمان محدود، این کار عملی نشد و از محدودیت‌های پژوهش محسوب می‌گردد. استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع (Liquid chromatography یا LC) به عنوان یک روش مرجع برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 (۲۴)، از جمله نقاط قوت تحقیق بود.

نتیجه‌گیری

آلودگی اقلام خوراکی دام با سموم قارچی و از جمله آفلاتوکسین‌ها اجتناب‌ناپذیر است و حتی در بهترین شرایط امکان وجود این سموم در خوراک دام و به دنبال آن، آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 وجود دارد. بنابراین، ضروری است که میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 در پایین‌ترین سطح ممکن و مطابق با استانداردهای ملی و بین‌المللی حفظ شود. با توجه به مصرف سرانه فعلی شیر در کشور و مقایسه نتایج تحقیق حاضر با استاندارد ملی کشور و استاندارد کمیسیون غذایی Codex، میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 نمی‌تواند بحران شدیدی برای مصرف‌کنندگان شیر در استان باشد. با توجه به نقش شیر در سلامت کودکان و مقاوم بودن آفلاتوکسین M_1 به عملیات فرآوری شیر، باید اقدامات اصلاحی و کارشناسی به منظور کاهش میزان آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1، تداوم یابد و کنترل ادواری آلودگی شیر به آفلاتوکسین M_1 نیز توسعه پیدا کند.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر به صورت طرح تحقیقاتی با شماره ۹۱۱۸۳-۱۳-۳۸-۴ در سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ثبت شده و توسط سازمان جهاد کشاورزی استان اصفهان تأمین اعتبار گردیده است. بدین وسیله از آقای دکتر پزشکی، آقای مهندس کرمانی و خانم دکتر مسایلی از اعضای محترم سازمان جهاد کشاورزی استان اصفهان به جهت همکاری در انجام مطالعه، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Sadeghi E, Mohammadi M, Sadeghi M, Mohammadi R. Systematic review study of Aflatoxin M_1 level in raw, pasteurized and UHT milk in Iran. Iran J Nutr Sci Food Technol 2013; 7(5): 599-612. [In Persian].
2. Nazari R, Noori M. Study of milk aflatoxin M_1 and its relationship with feed fungi flora in Markazi Province. Journal of Cell & Tissue 2010; 1(1): 9-18.
3. Gholampour Azizi I, Khoushnevis SH, Hashemi SJ. Aflatoxin M_1 level in pasteurized and sterilized milk of Babol city. Tehran Univ Med J 2008; 65(13): 20-4. [In Persian].
4. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, International Agency for Research on Cancer. Some traditional herbal medicines, some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2002.
5. Gholi Pour M, Karim Zadeh L, Ali Nia F, Babaee Z. Determination of Aflatoxin M1 in Mazandaran province at the first half of 2011. J Mazandaran Univ Med Sci 2012; 22(93): 40-6. [In Persian].
6. Daraei Garmakhany A, Zighamian H, Rasti Ardakani M, Sarhangpour R, Amiri SS. Investigation of Aflatoxin M_1 contamination in milk samples collected from Esfahan and Yazd provinces. Electronic Journal of Food Processing and Preservation 2010; 2(3): 31-42. [In Persian].
7. Tarkesh Esfahani M, Madani G, Hosseini P. Study of Aflatoxin M1 Levels in Iranian white cheese produced by Isfahan dairy

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]
[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]

factories using ELISA technique. J Health Syst Res 2013; 9(Special Issue on Nutrition): 1614-20. [In Persian].
8. Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Mycotoxins in food and feed comments on the draft maximum level for Aflatoxin m1 in milk: Proposed draft revised sampling plan for peanuts [Online]. [cited 2001]; Available from: URL: www.fao.org/input/download/report/27/Al0112Ae.pdf
9. European Food Safety Authority. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal 2004; 39: 1-27.
10. US FDA (Food and Drug Administration). Guidance for industry: Action levels for poisonous or deleterious substances in human food and animal feed [Online]. [cited 2000]; Available from: URL: https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/ChemicalContaminantsMetalsNaturalToxinsPesticides/ucm077969.htm
11. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Food and feed Maycotoxins maximum tolerated level, No: 5925. Tehran, Iran: ISIRI; 2001. [In Persian].
12. Van Egmond HP. Rationale for regulatory programmes for Mycotoxins in human foods and animal feeds. Food Addit Contam 2009; 10(1): 29-36.
13. Bellio A, Bianchi DM, Gramaglia M, Loria A, Nucera D, Gallina S, et al. Aflatoxin M1 in cow's milk: Method validation for milk sampled in northern Italy. Toxins (Basel) 2016; 8(3).
14. Pirestani A, Tabatabaei SN, Fazeli MH, Antikchi M, Baabaei M. Comparison of HPLC and ELISA for determination of Aflatoxin concentration in the milk and feeds of dairy cattle. Journal of Research in Agricultural Science 2011; 7(1): 71-8. [In Persian].
15. Riazipour M, Tavakoli Hr, Razaghi Abyaneh M, Rafati H, Sadr Momtaz MT. Measuring the amount of m1 Aflatoxin in pasteurized milks. Kowsar Medical Journal 2010; 15(2): 89-93. [In Persian].
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. Behfar A, Nazari Khorasgani Z, Alemzadeh Z, Goudarzi M, Ebrahimi R, Tarhani N. Determination of Aflatoxin m1 levels in produced pasteurized milk in Ahvaz city by using HPLC. Jundishapur J Nat Pharm Prod 2012; 7(2): 80-4.
18. 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.
19. Ahmadzadeh F, Mirlohi M, Mohammad Hasani F. Systematic review study of Aflatoxin m1 level in milk and it's dairy products in Iran. J Health Syst Res 2015; 11(1): 10-20. [In Persian].
20. Kazemian A, Golizadeh H, Hossennpour R, Fazli B, Rafiei M, Ahmadi K, et al. Iran agricultural statistics yearbook. Tehran, Iran: Ministry of Agriculture Jihad; 2016. p. 117-21. [In Persian].
21. FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO food additives series 47: Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2001.
22. Skrbic B, Zivancev J, Antic I, Godula M. Levels of Aflatoxin M1 in different types of milk collected in Serbia: Assessment of human and animal exposure. Food Control 2014; 40: 113-9.
23. Kuiper-Goodman T. Uncertainties in the risk assessment of three Mycotoxins: Aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. Can J Physiol Pharmacol 1990; 68(7): 1017-24.
24. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products. Determination of Aflatoxin M1 by HPLC method and immunoaffinity column clean up-Test method (Amendment No.1). Tehran, Iran: ISIRI; 2013. [In Persian].

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]
[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]
[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]

DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207 Published by Vesnu Publications

Journal of Health System Research Vol. 14, No. 2, Summer

Received: 18.07.2017 Accepted: 28.09.2017 Published: 06.07.2018

Aflatoxin M_1 Contamination Rate in Pasteurized Milk in Isfahan City, Iran

Mohsen Rasti-Ardakany[1], Ahmad Reza Ranjbari[1], Mohammad Reza Hydari[2]

Original Article

Abstract

Background: Mycotoxins in milk are a public health concern, and there is a need for monitoring their levels regularly. In this study, the level of aflatoxin M_1 in raw and pasteurized milk was evaluated in Isfahan City, Iran.

Methods: During late March and early April 2015, 19 raw milk and 89 pasteurized milk samples distributed in Isfahan City, were collected from supermarkets, and checked for aflatoxin M_1 (AFM1). Samples were analyzed for aflatoxin M_1 with a validated high-performance liquid chromatography (HPLC) method.

Findings: Aflatoxin M_1 was less than Iranian national standard in all pasteurized milk produced inside and outside of Isfahan Province, but more than European Union (EU) standard in 2.63% of inside-produced and 37.50% of outside-produced milks. The mean concentration of aflatoxin M_1 in inside- and outside-produced milks (the whole raw and pasteurized milks) was 0.020 ± 0.014 and 0.040 ± 0.200 µg/l, respectively; and the mean concentration of aflatoxin M_1 in pasteurized milk was 0.030 ± 0.019 µg/l that was significantly lower than Iranian national standard (0.1 µg/l), United States Food and Drug Administration (FDA) standard (0.5 µg/l), and EU standard (0.05 µg/kg). The mean concentration of aflatoxin M_1 in raw milk was 0.008 ± 0.011 µg/l that was significantly lower not only than the FDA, Iranian national, and EU standards, but also than mean concentration of aflatoxin M_1 in pasteurized milk. Moreover, the mean aflatoxin M_1 concentration in pasteurized milk produced in Isfahan Province was significantly lower thank milks imported from other provinces to Isfahan.

Conclusion: It is concluded that during winter of 2015, aflatoxin M_1 levels in raw and pasteurized milks marketed in Isfahan City were not a serious human health hazard, but strict regular control by official organizations is emphasized.

Keywords: Aflatoxin M_1, HPLC, Milk, Iran

Citation: Rasti-Ardakany M, Ranjbari AR, Hydari MR. **Aflatoxin M_1 Contamination Rate in Pasteurized Milk in Isfahan City, Iran.** J Health Syst Res 2018; 14(2): 265-71.

1- Lecturer, Department of Animal Science Research, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Education and Extension Organization (AREEO), Isfahan, Iran

2- Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Education and Extension Organization (AREEO), Isfahan, Iran

Corresponding Author: Mohsen Rasti-Ardakany, Email: m.rasti@areeo.ac.ir

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2024-05-07]

[DOR: 20.1001.1.17352363.1397.14.2.19.1]

[DOI: 10.22122/jhsr.v14i2.3207]