

## AFM1 Contamination in used yogurt in one the of universities of medical sciences in Tehran by ELISA

Tavakoli HR.<sup>1</sup>PhD; Riazipour M.\*PhD; Ráfáti Shaldehi H.<sup>2</sup>PhD; Shahriari M.<sup>3</sup>MA; Naghavi S.<sup>4</sup>MA; Rahmati Najarkolaei-F.<sup>5</sup>PhD

\* Department. of Microbiology ,Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>1</sup> Department. of Nutrition , Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department. of statistics and Epidemiology, Throma Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Department. of Nutrition, Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Department. of Nutrition, Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>5</sup> Health Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

**Aims:** aflatoxins are one of the most fungi poisons in dairy productions that cause dangrouse complications. The aim of this study was assessment of AFM1 Contamination in used yogurt in one the of universities of medical sciences in Tehran.

**Methods:** In this cross-sectional descriptive study, 100 samples of pasteurized yogurt were produced by two different factories in both winter and summer seasons were selected randomly and examined by ELISA technique for aflatoxin M1 contamination. Data were analyzed by SPSS and T-test and Man-withiney statistical tests.

**Results:** AFM1 was found in 70% of examined samples. The average of contaminated level was 31.29 ( $\pm$ 21.5) ng/ kg. The 12 samples had more contamination than standards level. Mean contamination of AFM1 in summer yogurt samples was significantly lower than winter samples ( $p < 0.007$ ).

**Conclusion:** The finding of this study and other studies show that produced yogurt products by different factories in Iran have high contamination of aflatoxin M1 which can threat public health. More surveillence and control of animal feeding and dairy products factories can led to reduction of contamination with this mycotoxin in dairy products.

**Keywords:** Aflatoxin M1 , yogurt , ELISA, Tehran Medical Sciences

## بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در ماست مصرفی یکی از دانشگاه های علوم پزشکی شهرتهران با روش الیزا

دکترحمیدرضا توکلی PhD

دانشیار گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

دکتر مجید ریاضی پور \* PhD

دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

دکتر حسن رفعتی شالدهی PhD

مربی گروه آمار و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت و مرکز تحقیقات ترومای دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

محدثه شهریاری MA

کارشناس گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

سیمین نقوی MA

کارشناس گروه تغذیه مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

دکتر فاطمه رحمتی نجار کلائی PhD

استادیار، مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۹

تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲

\* نویسنده مسئول: mriazipour@yahoo.com

### چکیده:

**اهداف:** آفلاتوکسین ها گروهی از مهمترین سموم قارچی هستند که از طریق مصرف برخی مواد غذایی بویژه محصولات لبنی وارد بدن شده و عوارض خطرناکی را ایجاد می نمایند. هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در ماست مصرفی یکی از دانشگاههای علوم پزشکی شهر تهران بوده است.

**روش ها:** در این مطالعه مقطعی- توصیفی تعداد ۱۰۰ نمونه ماست پاستوریزه تولید شده توسط دو کارخانه مشهور ایران، در دو فصل تابستان و زمستان بطور تصادفی انتخاب و با استفاده از روش ELISA از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M1 بررسی گردید. داده ها با استفاده از نرم افزار آماری spss و آزمون های آماری t-test و Man-withiney مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته ها:** آفلاتوکسین M1 در ۷۰٪ از نمونه ها یافت شد و متوسط مقدار آفلاتوکسین (۲۱/۵) ± ۳۱/۲۹ نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید. همچنین ۱۲ نمونه دارای آلودگی بیش از حد استاندارد بودند. میانگین AFM1 در نمونه های ماست جمع آوری شده در فصل تابستان به طور معنی داری ( $p < 0.007$ ) پایین تر از نمونه های جمع آوری شده در فصل زمستان می باشد.

**نتیجه گیری:** یافته های این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده نشان می دهد ماست تولید شده توسط کارخانجات مختلف ایران دارای آلودگی بالایی به آفلاتوکسین M1 هستند که می تواند سلامت عموم جامعه را تهدید نماید. کنترل و نظارت بیشتر بر خوراک دام و شرکت های تولیدکننده این محصولات میتواند در کاهش میزان آلودگی فرآورده های شیری به این مایکوتوکسین مؤثر باشد.

**کلیدواژه ها:** آفلاتوکسین M1، ماست، ELISA، علوم پزشکی تهران

### مقدمه

آفلاتوکسین ها، یکی از مهمترین سموم قارچی هستند که به دنبال رشد برخی از گونه های اسپرژیلوس نظیر اسپرژیلوس فلاووس و اسپرژیلوس پارازیتیکوس و اسپرژیلوس نومینوس در مواد غذایی (لبنیات، غلات، خشکبار و...) تولید می شوند. در صورت وجود شرایط مناسب، تولید این سموم در مواد غذایی در مراحل مختلف تولید، فرآوری، و نگهداری مواد غذایی امکان پذیر است. گونه های اسپرژیلوس انواع آفلاتوکسین های G2، B2، G1، و B1 را تولید می کنند که در بین آنها آفلاتوکسین B1 سمی ترین نوع می باشد و بیش از دیگر انواع آفلاتوکسین در غذا و علوفه کپک زده یافت می شود [۱ و ۲]. این سم پس از ورود به بدن در کبد متابولیزه شده، و متابولیتی به نام آفلاتوکسین M1 را به وجود می آورد که میتواند از طریق شیر، ادرار و مدفوع حیوان منتقل گردد [۳ و ۴]. پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و فرآوری شیر تأثیری بر کاهش سمیت و بقای آفلاتوکسین M1 ندارد، بنابر این انسان بطور غیر مستقیم نیز با مصرف فرآورده های دامی از جمله شیر و فرآورده های آن در معرض عوارض آفلاتوکسین ها قرار می گیرد. آفلاتوکسین ها دارای اثرات سیتوتوکسیک، ژنوتوکسیک، موتاژنیک، تراژنیک، و کارسینوژنیک هستند و این اثرات به اثبات رسیده است. این سموم در دوزهای بالا آسیب های کبدی حاد و در دوز های پائین سرطان کبد ایجاد می نمایند [۵ و ۶].

ایجاد سرطان در سایر دیگر اعضا بویژه ریه و تضعیف سیستم ایمنی، که حساس شدن افراد برای ابتلا به بیماری های مختلف را به دنبال دارد، از دیگر عوارض این سموم بشمار می رود. مقدار این سم در شیر و لبنیات بستگی به مقدار سم در علوفه دارد و از فاکتورهای اصلی موثر بر آن میتوان به حرارت و رطوبت محیط و سیلوی مورد استفاده اشاره کرد. محیط گرم با بالاتر از ۳۰ درجه سانتیگراد و رطوبت بالاتر از ۹۰ درصد از شرایط مناسب برای تولید آفلاتوکسین محسوب می شوند. البته گاهی دما و رطوبت کمتر (۲۵ درجه و ۷۵ درصد) نیز برای تولید آفلاتوکسین گزارش گردیده است.

میزان سم با فصل در ارتباط می باشد. اگرچه سمیت آفلاتوکسین M1 بمراتب کمتر از آفلاتوکسین B1 است، ولی با توجه به جمعیت مصرف کننده مواد لبنی این سمیت چشمگیر است. از

انجام این مطالعه بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در ماست مصرفی یکی از دانشگاههای علوم پزشکی شهر تهران بوده است.

## روشها

در این مطالعه مقطعی- توصیفی، ۱۰۰ نمونه ماست مربوط به دو کارخانه تولید کننده محصولات لبنی در دو فصل تابستان و زمستان (۵۲ نمونه در فصل تابستان و ۴۸ نمونه در فصل زمستان) از سردخانه نگهداری مواد غذایی دانشگاه بطور تصادفی جمع آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه فارچ شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M1 مورد آزمایش قرار گرفت. برای انجام این مطالعه ابتدا نمونه ماست مخلوط و کاملاً یکنواخت گردید. سپس ۵ گرم از نمونه در داخل لوله فالکون ۵۰ میلی لیتری قرار گرفت تا برای عصاره گیری مورد استفاده قرار گیرد. به منظور استخراج سم آفلاتوکسین M1 از نمونه های ماست، عصاره گیری از آن ها با استفاده از حلال دی کلرو متان خالص (Merk) انجام شد. برای این کار به لوله فالکون (حاوی ۵ گرم از نمونه ماست)، مقدار ۴۰ میلی لیتر حلال اضافه گردید و با استفاده از همزن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه مخلوط شد. سپس لوله فالکون به مدت ۱۵ دقیقه بطور ثابت قرار می گرفت تا حلال در زیر و مواد شناور در سطح آن قرار گیرند. با کنار زدن لایه رویی، ۱۰ میلی لیتر از لایه زیرین با استفاده از پی پت برداشت شده و به لوله فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل و به منظور تبخیر حلال به مدت یک شب در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار می گرفت. روز بعد به لوله فالکون حاوی باقی مانده روغنی شکل مقدار ۰/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات (pH=7.2)، و یک میلی لیتر آن هپتان (شرکت) اضافه و کاملاً مخلوط می شد. پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدن در ۲۷۰۰ لایه آن هپتان رویی دور ریخته می گردید. سپس یکصد میکرولیتر از لایه متانول- آبی زیرین با ۴۰۰ میکرولیتر از بافر شماره ۱ تعبیه شده در کیت مخلوط (۱به ۵) و یکصد میکرولیتر از آن برای انجام الایزا مورد استفاده قرار می گرفت. سپس برای محاسبه غلظت توکسین در نمونه های مورد آزمایش از یک منحنی استاندارد نیمه لگاریتمی استفاده شد. پس از اتمام الایزا، درصد جذب استاندارد ها با تقسیم کردن جذب هر یک از ۵ استاندارد تعبیه شده در کیت به میزان جذب کنترل منفی (استاندارد شماره ۱، فاقد سم آفلاتوکسین M1) و ضرب آن در عدد ۱۰۰ مشخص می شد. سپس با استفاده از نرم افزار Curve، با قرار دادن لگاریتم غلظت استاندارد ها روی محور افقی و درصد جذب آن ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر بر روی محور عمودی، منحنی استاندارد رسم و غلظت سم در نمونه های مجهول محاسبه می گردید. قابل ذکر است که به منظور اطمینان از نتایج بدست آمده نمونه هایی که میزان آلودگی آنها بیش از حد

طرفی مسئولین وزارت بهداشت و آموزش پزشکی و مسئولین سلامت و تغذیه دانشگاه با بر شمردن فواید مصرف لبنیات سعی در بالا بردن مصرف سرانه لبنیات در کشور دارند و انتظار می رود مصرف سرانه شیر در ایران رشد چشمگیری داشته باشد. با توجه به خاصیت تجمعی این سموم در بدن این خطر وجود دارد که با بالا رفتن مصرف سرانه لبنیات بیماریهای ناشی از این سموم هم افزایش یابد. اجتناب از مصرف مواد غذایی آلوده بهترین راه برای در امان ماندن از عوارض آفلاتوکسین ها است. این اجتناب برای بیماران بستری شده در بیمارستان ها ضروری تر می نماید زیرا عوارض ناشی از مایکوتوکسین ها می توانند باعث وخیم تر شدن بیماری آن ها شود و یا روند بهبودی را به تاخیر بیندازد. نتایج این مطالعه می تواند شواهد مستقیم و غیر مستقیم از وضعیت جاری تماس جامعه با آفلاتوکسین ها فراهم کند. اگر میانگین آلودگی ماست های مصرفی بالاتر از حد مجاز استاندارد ایران (۵۰ نانوگرم در لیتر) و شیوع آلودگی بیش از حد انتظار باشد علاوه بر گوشزد نمودن خطرات ناشی از مصرف ماست آلوده به آفلاتوکسین ها، شاخصی است که بطور غیر مستقیم وخامت اوضاع محصولات کشاورزی و فرآورده های غذایی مورد مصرف انسان و دام را نشان می دهد [۷]. تشخیص سموم تولید شده توسط میکرو بها (باکتریها و قارچها) در مواد غذایی مصرفی یکی از موضوعات بسیار مهم در بهداشت مواد غذایی محسوب می گردد که با روش های مختلفی از جمله تکنیک ELISA و HPLC انجام می پذیرد. این روش ها در مقایسه با روش های سنتی دارای سرعت و دقت بالاتری بوده و امروزه در بسیاری از مراکز تحقیقاتی مورد استفاده قرار میگیرند [۸-۱۰].

یکی از مهمترین وظایف مسئولین بهداشت هر سازمان حفظ و ارتقاء سلامت کارکنان است که یکی از روش های آن اطمینان از سلامت و کیفیت مواد غذایی مصرفی آنان می باشد. بر همین اساس لازم و ضروری است که هر چند یکبار بصورت تصادفی از غذاهای مصرفی نمونه برداری شده و آزمایشات کنترل کیفی استاندارد بر روی آنها صورت گیرد. یکی از پرمصرف ترین گروه های غذایی در جامعه گروه شیر و لبنیات هستند که بر طبق مطالعات انجام شده دارای آلودگی بالایی به آفلاتوکسین هستند و مطالعات زیادی در داخل و خارج کشور بر روی آلودگی شیر و پنیر به آفلاتوکسین صورت پذیرفته ولی بر روی آلودگی ماست به آفلاتوکسین در داخل کشور تنها یک مطالعه انجام شده است و انجام مطالعات بیشتر در این خصوص کاملاً لازم و ضروری به نظر میرسد. این موضوع بویژه برای دانشگاه های علوم پزشکی کشور که دارای مراکز بهداشتی و درمانی زیادی بوده و علاوه بر کارکنان شاغل در آنها دارای تعداد زیادی بیمار در بیمارستان های وابسته میباشد از اهمیت بیشتری برخوردار است. هدف از

مقدار آفلاتوکسین M1 در محصولات لبنی دو شرکت تولید کننده محصولات لبنی که در این مطالعه با نام های A و B معرفی گردیده اند همانگونه که در جدول مشاهده می شود، بطور متوسط میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در نمونه های مربوط به شرکت A بیشتر از شرکت B بوده است ولی اختلاف معنی داری مشاهده نگردید ( $p > 0.003$ ). متوسط مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه های ماست تابستان و زمستان شرکت A به ترتیب  $(14/15 \pm)$  و  $(33/34 \pm)$  و  $(44/01 \pm)$  نانوگرم در کیلوگرم و در نمونه های تابستان و زمستان شرکت B به ترتیب  $(15/32 \pm)$  و  $(25/76 \pm)$  و  $(32/64 \pm)$  نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید. از نظر فصلی هم در مورد نمونه های تابستان و هم در مورد نمونه های زمستان هیچگونه تفاوت معنی داری بین نمونه های ماست دو شرکت A و B مشاهده نگردید، اما اختلاف بین نمونه های تابستان و زمستان شرکت A با یکدیگر معنی دار بوده است ( $p < 0.007$ ).

استاندارد بود با استفاده از روش HPLC مورد تایید قرار گرفت. پس از ثبت و ذخیره داده ها در کامپیوتر با استفاده از نرم افزار SPSS 15 و آزمون آماری t-test و ناپارامتری Man-withiney نتایج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

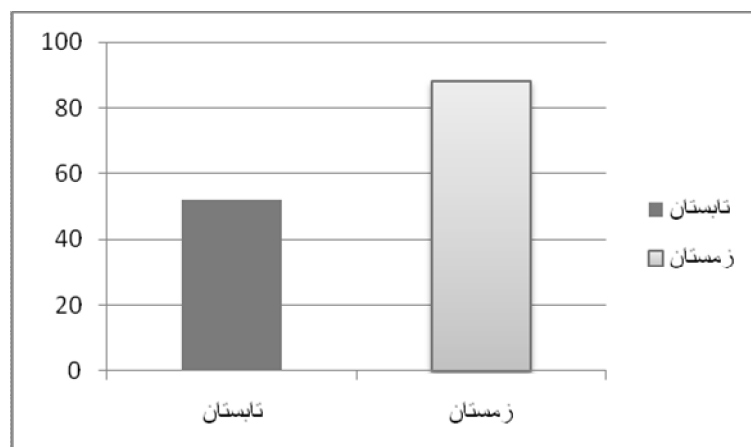
## نتایج

نتایج این مطالعه در جدول شماره ۱ و نمودارهای شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. همانگونه که در جدول شماره ۱ مشاهده می گردد از مجموع ۱۰۰ نمونه مورد آزمایش ۷۰ نمونه (۷۰٪ موارد) به مقادیری از این توکسین آلوده بودند و متوسط مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه های مورد آزمایش  $(21/5 \pm)$  و  $31/29$  نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید. از بین ۱۰۰ نمونه مورد آزمایش ۱۲ نمونه (۱۲٪ موارد) دارای آلودگی بیش از حد استاندارد بوده که ۸ نمونه (۶۶/۶۶٪ موارد) مربوط به نمونه های جمع آوری شده در فصل زمستان و ۴ نمونه (۳۳/۳۳٪ موارد) مربوط به نمونه های جمع آوری شده در فصل تابستان بوده است. از نظر مقایسه

جدول شماره ۱) مقایسه میزان آلودگی به آفلاتوکسین M1 در نمونه های ماست مورد آزمایش (نانوگرم در لیتر) بر حسب نوع کارخانه. (با روش الیزا)

ردیف	نام کارخانه	تعداد نمونه	تعداد و درصد آلودگی به AFM1 (با روش الیزا)	متوسط مقدار AFM1 بر حسب ng/kg
۱	A	۵۲	۲۸ (۷۳/۰۳)	۳۳/۶۷ ( $\pm 27/95$ )
۲	B	۴۸	۳۲ (۶۶/۶۶)	۲۸/۹۲ ( $\pm 15/05$ )
۳	A و B	۱۰۰	۷۰ (۷۰)	۳۱/۲۹ ( $\pm 21/5$ )

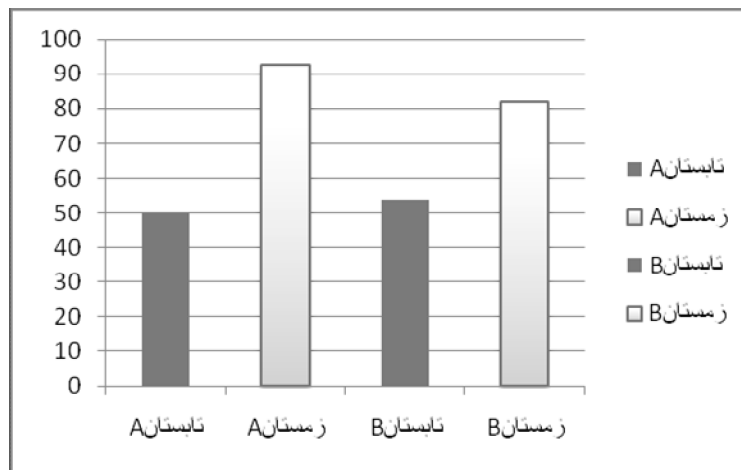
\*مقدار مجاز آفلاتوکسین M1 در شیر و ماست کمتر از ۵۰ نانوگرم در لیتر و در پنیر کمتر از ۲۰۰ نانوگرم در کیلوگرم می باشد.



نمودار ۱) مقایسه میزان آلودگی به AFM1 در نمونه های ماست (نانوگرم در لیتر)

بر حسب فصل

\*حد استاندارد AFM1 در نمونه های ماست ( $50 \text{ ng/L}$ ) می باشد.



نمودار ۲) مقایسه میزان آلودگی به AFM1 در نمونه های ماست (نانوگرم در لیتر) بر حسب فصل و نوع کارخانه

## بحث

یکی از مهمترین وظایف مسئولین سلامت هر سازمان حفظ و ارتقاء سلامت کارکنان است که از جنبه های مهم آن توجه به بهداشت و ایمنی مواد غذایی مصرفی کارکنان می باشد. به منظور اطمینان از سلامت غذای مصرفی از روشهای مختلفی استفاده می گردد که یکی از آنها کنترل میکروبی غذاهای مصرفی است که با انجام نمونه گیری تصادفی و استفاده از آزمایشات استاندارد در آزمایشگاه صورت می پذیرد. آلودگی مواد غذایی به آفلاتوکسین امروزه از اهمیت ویژه ای برخوردار است و آفلاتوکسین M1 (AFM1) یکی از متابولیت های خطرناک آفلاتوکسین B1 است که دارای اثرات سرطانزایی، ناقص الخلقه زایی و مسمومیت حاد و مزمن است. این سم علاوه بر این که میتواند در شیر گاوهایی که از علوفه یا غذای کنسانتره آلوده به AFB1 استفاده نموده اند، وجود داشته باشد، در پنیر شیر خشک و ماست نیز میتواند وجود داشته باشد [۱۱]. بنابراین لازم است به منظور حفظ سلامت جامعه فرآورده های حاصل از آن مانند پنیر، ماست و... از نظر وجود آلودگی به این سم قارچی مورد آزمایش قرار گرفته و از عدم آلودگی آنها اطمینان پیدا کرد [۱۱]. گزارشاتی موجود نشان دهنده این واقعیت است که محققین بیشتر کشورهایی که دارای صنعت دامداری پیشرفته هستند جهت تعیین وضعیت آلودگی شیر و فرآورده های آن به AFM1 تحقیقاتی را انجام داده اند و انجام این قبیل مطالعات در تمامی کشورها از اهمیت زیادی برخوردار است. نتایج این مطالعه که بر روی ۱۰۰ نمونه ماست پاستوریزه دو شرکت تولید کننده محصولات لبنی (شرکت های A و B) با استفاده از روش الایزا از نظر وجود آفلاتوکسین M1 انجام گرفت نشان داد ۷۰٪ از نمونه های مورد آزمایش به سطوح مختلفی از AFM1 آلوده هستند و متوسط میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه های ماست ۳۱/۲۹ نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید که نشان دهنده آلوده بودن شیر اولیه مورد استفاده کارخانجات فوق برای تهیه این محصولات

لبنی است و ۱۲ نمونه (۱۲٪ موارد) دارای آلودگی بیش از حد استاندارد (۵۰ ng / kg) بودند. در کشور ما تنها یک مطالعه توسط غلامپور و همکاران (۱۳۸۹) بر روی آلودگی ماست به آفلاتوکسین صورت گرفته که طی آن ۵۰ نمونه ماست مصرفی شهرستان آمل با روش ELISA از نظر آلودگی به این توکسین مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آن نشان داد تنها ۲ نمونه (۴٪ موارد) با حداقل میزان ۲/۱ نانوگرم در لیتر دارای آلودگی AFM1 بودند [۶]. مقایسه نتایج ما با این مطالعه نشان می دهد هم میزان آلودگی و هم متوسط مقدار آفلاتوکسین در مطالعه ما بسیار بیشتر از مطالعه فوق میباشد که نشانگر آلودگی بیشتر شیر مورد استفاده کارخانجات مورد نظر در تهیه ماست می باشد. در خارج از کشور مطالعات زیادی بر روی آلودگی محصولات لبنی به آفلاتوکسین انجام گرفته است. بطور مثال مطالعه Sarimehmetoglu و همکاران (۲۰۰۳) در ترکیه بر روی ۱۳۲ نمونه ماست نشان داد که ۴۹ نمونه (۳۷/۱۲٪) دارای مقداری بین ۸۰۰-۵۰ نانوگرم در کیلوگرم AFM1 بوده اند که نشانه حضور بالای این سم در ماست مصرفی این کشور می باشد [۱۲]. این محقق در مطالعه بعدی خود (۲۰۰۷) نشان داد ۶۲/۸۸٪ نمونه های ماست عرضه شده در فروشگاههای مختلف شهر آنکارا به AFM1 آلوده اند و میزان آلودگی طی این ۴ سال رو به افزایش بوده است [۱۳]. Gurbay و همکاران نیز (۲۰۰۶) ۴۰ نمونه ماست که بطور تصادفی از سوپر مارکت های شهر آنکارا جمع آوری شده بود را با روش الایزا مورد آزمایش قرار دادند که در ۳۲ نمونه (۸۰٪) سطوحی از آلودگی بین ۳۶۵/۶۴ - ۶۱/۶۱ نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید [۱۴]. در مطالعه AKKaya و همکاران بر روی ۱۷۷ نمونه ماست (شامل ۱۰۴ نمونه ماست معمولی، ۲۱ نمونه ماست میوه ای و ۵۲ نمونه ماست چکیده) نیز نشان داد که ۶۵/۳۸٪ از نمونه های ماست معمولی، ۳۳/۳٪ از نمونه های ماست میوه ای و ۵۵/۷٪ از نمونه های ماست چکیده به سطوحی از AFM1 آلوده هستند [۱۵] نتایج هر سه مطالعه

نمونه های گرفته شده در فصل زمستان کارخانه A اختلاف معنی دار ( $P < 0/007$ ) مشاهده گردید و نمونه های زمستان آلودگی بیشتری را نشان دادند (نمودار ۱ و ۲) که با نتایج مطالعات انجام شده در داخل و خارج کشور بر روی آلودگی محصولات لبنی به آفلاتوکسین همخوانی دارد زیرا در این مطالعات نیز نمونه های مربوط به ماه های فصل زمستان آلودگی بیشتری نسبت به نمونه های مربوط به ماه های فصل تابستان داشته اند. [۴ و ۱۰ و ۱۲ و ۲۳ و ۲۴].

### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده نشان می دهد شیر و فرآورده های شیری (مانند ماست و...) مصرفی در بسیاری از کشورهای جهان به مقادیری از AFM1 آلوده هستند که میتواند بعنوان یک عامل خطر تهدید کننده برای سلامت عموم جامعه مطرح باشد. متأسفانه وضعیت فرآورده های لبنی تولیدی در ایران از نظر آلودگی به آفلاتوکسین MI نامطلوب بوده و با توجه به عوارض ناشی از این توکسین در دراز مدت (مسمومیت مزمن، سرطان زایی، ناقص الخلقه زایی و...) و تهدید سلامت مصرف کنندگان، دست یابی به روش هایی برای کاهش میزان آلودگی شیر مورد استفاده برای تولید ماست از سوی مسئولین بهداشت و سلامت کشور لازم و ضروری است. نظر به اینکه مصرف فرآورده های لبنی بخصوص ماست از سوی متخصصین تغذیه بسیار مورد تاکید قرار گرفته و پس از گروه میوه و سبزی ها بیشترین سهم را در هرم غذایی خانواده دارا هستند اهمیت توجه به سلامت این گروه از مواد غذایی دو چندان می گردد.

پیشنهادات زیر می تواند در کاهش آلودگی محصولات لبنی و نیز اطمینان از سلامت مواد غذایی مصرفی در جامعه بویژه در دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) مفید به فایده قرار گیرد:

**۱- کنترل جیره غذایی دام های تولید کننده شیر:** عدم استفاده از علوفه کپک زده یکی از راههای مناسب برای کاهش مقدار آفلاتوکسین در شیر حیوانات محسوب می گردد. به همین منظور توصیه می گردد علوفه مصرفی دام ها در شرایط خشک و خنک نگهداری گردند زیرا مقدار این سم در شیر و لبنیات بستگی به مقدار سم در علوفه دارد، زیرا رطوبت و حرارت دو عامل مهم برای رشد کپک ها و تولید سموم قارچی محسوب می گردند. همچنین برخی از دامداری ها برای تغذیه دام های خود از نان کپک زده جمع آوری شده از سطح شهر استفاده می کنند که این موضوع نیز باعث آلودگی شیر دام ها به آفلاتوکسین میگردد و باید مورد توجه قرار گیرد.

**۲- کنترل و نظارت بیشتر بر مراکز دریافت شیرخام و کارخانه های تولید کننده فرآورده های لبنی:** در هنگام دریافت شیر خام از دامداری ها آزمایشات متعددی بر روی آن

اخیر انجام شده در این کشور تا حدودی با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد. بر اساس مطالعه انجام شده توسط Kim و همکاران (۲۰۰۶) در کره جنوبی، از میان ۱۸۰ نمونه ماست مورد آزمایش ۸۳٪ نمونه ها به AFM1 آلوده بوده اند [۱۶] که این میزان آلودگی از میزان آلودگی ماست های مورد آزمایش در مطالعه ما بیشتر می باشد. همچنین در این مطالعه از دو روش ELISA و HPLC برای تشخیص و اندازه گیری مقدار توکسین استفاده گردیده است و در مطالعه ما نیز موارد مثبت با روش HPLC مورد تایید قرار گرفت. نتایج مطالعات فوق نشان می دهد اولاً روش های الیزا و HPLC از روشهای مطمئن برای تایید وجود آفلاتوکسین هستند و ثانياً شیر مورد مصرف برای تهیه محصولات لبنی در کشورهای آسیایی همچون ایران، ترکیه و کره به آفلاتوکسین تا حد زیادی آلوده است که مصرف آنها میتواند سلامت جامعه را تهدید نماید. با توجه به اینکه آفلاتوکسین MI دارای اثرات سمی تراژونیک و کارسینوژنیک است، آژانس بین المللی تحقیقات سرطان آن را بعنوان ترکیبات سرطانزا در انسان و حیوانات معرفی کرده است [۱۷]. همچنین نتایج بررسی های Creppy در خصوص اثرات سمی مایکوتوکسین ها در اروپا و گزارشات سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال های ۱۹۹۳ و ۲۰۰۲ در خصوص اثرات سرطانزایی آمین های آروماتیک حلقوی و مایکوتوکسین ها در انسان نشان دهنده عوارض و خطرات ناشی از مصرف مواد غذایی آلوده به این توکسین می باشد [۲۱-۱۸]. آلودگی محصولات لبنی (بویژه ماست) به آفلاتوکسین تنها به کشورهای آسیایی محدود نمی شود و در بسیاری از کشورهای اروپایی نیز گزارش گردیده است. Martins و همکاران در کشور پرتغال، ۹۶ نمونه ماست تجاری (شامل ۴۸ ماست طبیعی و ۴۲ ماست میوه ای) را با روش HPLC مورد بررسی قرار دادند و در ۱۸ نمونه (۱۸/۸٪ موارد) و ۳۲ نمونه ماست میوه ای سطوح مختلفی از AFM1 مورد تایید قرار گرفت که ۴ نمونه دارای آلودگی بیش از حد استاندارد بوده است. این مطالعه اولین بررسی در مورد حضور AFM1 در ماست در کشور پرتغال بوده است [۳] که نشان میدهد میزان آلودگی ماست به AFM1 در این کشور به مراتب پایین تر از میزان آلودگی در نتایج ما میباشد. Galvano و همکاران نیز گزارش نموده اند که ۸۰٪ نمونه های ماست مصرفی در ایتالیا به سطوح کم تا زیاد AFM1 آلوده هستند [۲۲]. میزان آلودگی ماست های آزمایش شده در مطالعه ما نیز تقریباً مشابه میزان آلودگی ماست های عرضه شده در کشورهای کره، ایتالیا و ترکیه است و موضوع فوق را تایید می نماید. مطالعه ما نشان داد از نظر فصلی اختلاف معنی داری بین محصولات تولید شده در فصل تابستان و زمستان وجود دارد بطوری که بین نمونه های ماست گرفته شده در فصل تابستان با

## تشکر و قدر دانی

از مرکز تحقیقات بهداشت نظامی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ... (عج) برای تصویب و تامین مالی این طرح تحقیقاتی صمیمانه قدردانی و تشکر میگردد.

## منابع

1. 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; 30; 116(3): 346-349. Epub 2007 Mar 1.
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): 25-29. Epub 2006 Dec 18.
3. Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal. *Int J Food Microbiol* 2004 15; 91(3): 315-317.
4. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food Chem Toxicol* 2006; 44(11): 1897-1900. Epub 2006 Jul 4.
5. 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. *Anal Chim Acta* 2007; 594(2): 257-264.
6. Barjasteh MH, Gholampour Azizi A, Ghaemi N, Noushfâr A. Determination of Aflatoxins in yogurt. 16<sup>th</sup> ed. Congress of veterinary. Iran: Tehran; 2010. [In Persian]
7. el-Nezami HS, Nicoletti G, Neal GE, Donohue DC, Ahokas JT. Aflatoxin M1 in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chem Toxicol* 1995 Mar; 33(3): 173-179.
8. Tavakoli HR, Bayat M, Kosha M. Application of chromogenic media for rapid detection water and food-borne pathogens. *American-Eurasian J* 2008; 4(6): 693-699.
9. Manafi M, Romans H, Geissler KM. Quantitative determination of total coliforms and *E. coli* in marine waters with chromogenic and flourogenic media. *J Appl Bacteriol* 2005; 98: 280-285.
10. Pitkanen T, Paakkari P, Miettinen I.T, Heinonen-Tanski H, Paulin L, Hanninen M.L. Comparison of media for enumeration of coliform bacteria and *Escherichia coli* in non-

صورت می گیرد که نشان دهنده کیفیت شیر خام دریافتی است. در برخی از کشورها تعیین مقدار آفلاتوکسین در شیر دریافتی و فرآورده های شیری (مانند ماست و...) بعنوان یکی از آزمایشات روتین کنترل کیفیت انجام می گیرد. قرارگرفتن این آزمایش در فهرست آزمایشات مراکز و کارخانه های تولید کننده محصولات لبنی می تواند گام موثری در کاهش مقدار آلودگی این فرآورده ها به آفلاتوکسین محسوب گردد.

## ۳- نمونه گیری تصادفی و کنترل محصولات کارخانجات تولید کننده از نظر وجود آفلاتوکسین :

نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده در کشور اهمیت مراقبت و نظارت مستمر بر مصرف مواد لبنی در جامعه را نشان می دهد. اگر تولیدکنندگان محصولات لبنی تحت کنترل و نظارت منظم و مستمر قرار داشته باشند و محصولات تولیدی آنها بصورت تصادفی در سطح شهر جمع آوری و مورد آزمایش قرار گیرد منجر به دقت و توجه بیشتر تولید کنندگان و آلودگی کمتر محصولات به این توکسین خواهد شد.

## ۴- آموزش دامداران : یکی از وظایف مهم دست اندرکاران

نظام سلامت داشتن برنامه های آموزشی و اطلاع رسانی به عموم مردم جامعه است. این موضوع بویژه برای دامداران که به علت عدم آگاهی از علوفه مانده و کپک زده در تغذیه دامهای خود استفاده می کنند از اهمیت بیشتری برخوردار است و سازمان های مربوطه مانند وزارت کشاورزی و یا سازمان دامپزشکی کشور می توانند گام های موثری در این مورد بردارند. زیرا بدون تردید یکی از راههای مقابله با این مشکل کاهش غلظت AFB1 در غذای داده شده به حیوانات است. در غیر این صورت فرآورده های لبنی تولید شده حاوی مقادیر بالای آفلاتوکسین بوده و این امر می تواند بطور قابل ملاحظه ای برای سلامت افراد جامعه خطرناک باشد.

## ۵- خریداری فرآورده های لبنی از شرکت های معتبر:

با توجه به نتایج این مطالعه و سایر مطالعات انجام شده در کشور که نشان می دهند میزان آلودگی محصولات لبنی مصرفی در جامعه بیش از ۸۰ درصد است، و با توجه به اینکه سالیانه مبلغ قابل توجهی از بودجه دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) صرف خرید این فرآورده ها می گردد، به مسئولین و دست اندرکاران خرید پیشنهاد میگردد فرآورده های لبنی مورد نیاز خود را از شرکت های با آلودگی کمتر تهیه نمایند. در این تحقیق مشخص شد که محصولات تولیدی شرکت A دارای آلودگی بیشتری نسبت به محصولات تولیدی شرکت B دارد. بدیهی است به علت محدودیت بودجه در این طرح امکان بررسی محصولات سایر شرکت های تولید کننده مقدور نبود و نمی توان در خصوص آنها اظهار نظر کرد.

- products marketed in Italy. *J Food Prot* 1998; 1: 738-741.
23. Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk produced in Sarab city of Iran, *Food Control*. 2005; 16(7): 593-599.
24. Kabak B. Detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products consumed in Adana, Turkey, *Intl J Dairy Technol* 2009; 62: 15-18.
- disinfected water. *J Microbiol Methods* 2007; 68 (3): 522-529.
11. Hazhir MS, Rashidi K, Senoubar, Tahaei NAD, Reshadmanesh N, Mofareah N. Assessment of the types and rate of contamination in traditional ice-cream in Kurdistan province and its relationship to environmental and personal health care. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci* 2005; 10(3): 53-60. [In Persian]
12. Sarimehmetoglu B, Kuplulu O, Aycicek H. Detection of the aflatoxin M<sub>1</sub> in yoghurt by ELISA. *Milchwissenschaft* 2003; 58: 643-645.
13. Ghiasian SA, Maghsood AH, Neyestani TR, Mirhendi SH. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk during the summer and winter seasons in Hamedan, Iran. *J Food Saf* 2007; 27:188-198.
14. Gurbay A, Engin AB, Caglayan A, Sahin G. Aflatoxin M<sub>1</sub> levels in commonly consumed cheese and yoghurt samples in Ankara, Turkey. *Ecol Food Nutr* 2006; (45): 449-459.
15. Akkaya L, Osman Y, Birdanei, Halis O, Cemek M. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in yougurt samples from Afyonkarahisar, Turkey. *Akkaya Bull Vet Inst Pulawy* 2006; 50: 517-519.
16. Kim EK, Shon DH, Park JW, Hwang HJ, Kim YB. Occurrence of AFM<sub>1</sub> in Korean dairy products determined by ELISA and HPLC. *J Food Addit Contam* 2006; 17: 59-64.
17. Lafont P, Siriwardana M, Lafont J. Genotoxicity of hydroxy-aflatoxins M<sub>1</sub> and M<sub>4</sub>. *Microbiologie Alim Nutr Zurique* 1989; 7: 1-8.
18. Govaris A, Roussi V, Koidis PA, Botsoglou NA. Distribution and stability of aflatoxin M<sub>1</sub> during production and storage of yogurt. *Food Addit Contam* 2002; 19(10): 43-1050.
19. IARC, Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans, World Health Organization, IARC, Lyon, France 2002; 82: 171.
20. ISIRI. Milk and milk products-raw milk-specifications and test methods. Iranian national standard 164. 2<sup>nd</sup> revision. Jan. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Karaj, Iran; 2005
21. Kiermeier F, Weiß G, Behringer G, Miller M. Uber das Vorkommen und den Gehalt von Aflatoxin M<sub>1</sub> in Käsen des Handels. *Zeitschrift Lebensmitteluntersuchung und-Forschung* 1977; 163: 268-271.
22. Galvano F, Galofaro V, De Angelis A, Galvano M, Bognanno M, Galvano G. Survey of the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in dairy