● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ شانزدهم، شمارهٔ ۳، ص ۲۸۰-۲۷۱، ۱۳۸۸

مقالهٔ پژوهشی

تعیین میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر پاستوریزه مصرفی در استان کرمان

دکتر شیرین پورنورمحمدی[۱]، دکتر مهدی انصاری*[۲]، لیلی نزاکتی‌الفتی[۳]، دکتر مریم کاظمی‌پور[۴]، دکتر محمد حسیبی[۵]

خلاصه

مقدمه: آفلاتوکسین M_1 یکی از متابولیت‌های اصلی آفلاتوکسین B_1 است و در شیر پستاندارانی یافت می‌شود که غذاهای آلوده به آفلاتوکسین را مصرف کرده باشند.آفلاتوکسین‌ها یک گروه از متابولیت‌های سمی قارچی هستند که توسط قارچ‌های آسپرژیلوس تولید شده سمیت بالایی داشته و یکی از قوی‌ترین مواد سرطان‌زای موجود در غذا می‌باشند. با توجه به خطراتی که آفلاتوکسین‌ها برای انسان دارند و همچنین با توجه به مصرف بالای شیر و محصولات لبنی، مطالعه حاضر به منظور تعیین سطح آفلاتوکسین M_1 در شیرهای پاستوریزه استان کرمان برای اولین بار انجام گردید.

روش: در این مطالعه مقطعی - کاربردی در فصل زمستان به‌طور تصادفی تعداد هفتادوشش نمونه شیر پاستوریزه از هشت کارخانه تولید این فرآورده جمع‌آوری و آفلاتوکسین M_1 موجود در نمونه‌ها با استفاده از ستون ایمونوافینیتی استخراج و میزان آن با روش کروماتوگرافی با کارکرد بالا (HPLC) همراه با شناساگر فلورسنت اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: حداقل مقدار قابل اندازه‌گیری ۰/۰۰۲ppb به دست آمد. میزان آفلاتوکسین M_1 موجود در نمونه‌های مورد بررسی بین ۰/۰۰۲-۰/۱۴ppb قرار داشت که از حد مجاز توصیه شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (۰/۵ppb) بیشتر نبود. گرچه در مقایسه با حد مجاز توصیه شده توسط اتحادیه اروپا (۰/۰۵ppb) تعداد ۳۴ نمونه (۴۴/۷٪) حاوی آفلاتوکسین M_1 بیشتر بودند. از میان کارخانه‌های تولید کننده شیر در استان کرمان، میانگین AFM_1 شیرهای پاستوریزه تولید شده در کارخانه پگاه جیرفت در زمان مورد مطالعه کمترین مقدار بود (۰/۰۱۹±۰/۰۱۰ppb).

نتیجه‌گیری: هر چند با توجه به نتایج به‌دست آمده به‌نظر می‌رسد که در حال حاضر خطر جدی سلامت عمومی مردم را تهدید نمی‌کند ولی با توجه به مصرف بالای شیر و فرآورده‌های آن به ویژه در کودکان بهتر است این مسئله به عنوان یک خطر در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: شیر پاستوریزه، آفلاتوکسین M_1، HPLC، کرمان

۱- استادیار گروه سم‌شناسی- داروشناسی، دانشکده داروسازی، مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس و مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۲- دانشیار گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات فارماسیوتیکس، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد سم‌شناسی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۴- دانشیار شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان ۵- کارشناس معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** دانشکده داروسازی، پردیزه دانشگاه علوم پزشکی، ابتدای جاده هفت باغ، کرمان ● **آدرس پست الکترونیک:** Mansari@kmu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۲/۹ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۷/۹/۲ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۷/۹/۲۰

مقدمه

شیر به عنوان کامل‌ترین ماده غذایی طبیعت شناخته شده است. آلودگی این ماده حیاتی و فرآورده‌های آن می‌تواند خطر جدی برای سلامت جامعه محسوب شود. مایکوتوکسین‌ها در حد بالایی در مواد غذایی یافت می‌شوند. یک گروه از مایکوتوکسین‌ها آفلاتوکسین‌ها هستند که توسط دو کپک آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس تولید می‌شوند (۱). آفلاتوکسین‌ها انواع مختلفی دارند که شامل آفلاتوکسین B_1,B_2,G_1,G_2,M_1,M_2 می‌باشد و در زنجیره غذایی به ویژه در محصولات آلوده به قارچ ایجاد می‌شوند که ممکن است به‌طور مستقیم توسط انسان مصرف شده یا به وسیله غذای دام وارد بدن دام شده و سپس با مصرف شیر آلوده، وارد بدن انسان می‌شوند. در این مورد بیشتر آلودگی از طریق خوردن جیره غذایی آلوده به آفلاتوکسین B_1 یا B_2 توسط حیوان شیرده ایجاد می‌شود (۲). آفلاتوکسین M_1 مشتق هیدروکسیله آفلاتوکسین B_1 است که در کبد حیوان تولید می‌شود و به‌ویژه در بخش پروتئینی شیر باقی می‌ماند. این ماده اولین باقی‌مانده آفلاتوکسین دربافت‌های بدن گاوهای شیرده می‌باشد (۳). حرارت دادن، خشک کردن، ذخیره‌سازی، منجمدکردن و یا تغلیظ نمودن شیر سبب از بین رفتن و یا تغییر غلظت آفلاتوکسین M_1 نمی‌گردد. حتی بعد از پاستوریزه کردن یا استریلیزه کردن شیر باز هم آفلاتوکسین M_1 به دلیل مقاوم بودن به حرارت در شیر مشاهده می‌شود (۴،۵).

آفلاتوکسین‌ها گروهی از سم‌های قوی هستند که باعث نکروز و سیروز کبدی می‌شوند (۶). علائم مسمومیت با آفلاتوکیسن در پستانداران شامل از دست دادن اشتها، کمبود وزن، یرقان و تکثیر سریع سلول‌های مجرای صفراوی می‌باشند. آلودگی به آفلاتوکسین موجب زردی غشای مخاطی، تجمع چربی در کبد و خونریزی می‌شود. اگر چه اولین عضو مورد هدف در مصرف آفلاتوکسین کبد است اما ضایعات سرطانی در دیگر اندام‌ها مثل معده، کلیه، کولون و ریه نیز گزارش شده است. آفلاتوکسین B_1 یک ماده سرطان‌زا، جهش‌زا، ایجادکننده، ناهنجاری مادرزادی و همچنین تخریب کننده DNA می‌باشد. نتایج حاصل از آزمایش بر روی انسان و پستانداران مختلف نشان می‌دهد، آفلاتوکسین B_1 و M_1 دارای خواص سمیت کبدی و سرطان‌زایی می‌باشند (۷،۸). علائم مسمومیت مزمن آفلاتوکسین شامل آسیب کبدی، کاهش رشد، آسیب کلیوی، آنمی، اختلال سیستم ایمنی، اختلال در ساخت پروتئین و متابولیسم چربی و علائم حاد نیز شامل افسردگی، بیماری‌های اعصاب، دردهای شکمی، اسهال، پرولاپس رکتال و مرگ می‌باشد (۲).

به دلیل عوارضی که ذکر شد، در کشورهای توسعه یافته میزان آفلاتوکسین M_1 تا حد ممکن در شیر کنترل شده است. به‌طوری که حداکثر مجاز آفلاتوکسین M_1 در شیر در کشورهای اروپایی ۰/۰۵ppb (۹) و در آمریکا طبق توصیه سازمان غذا و دارو (FDA) ۰/۵ppb تعیین شده‌است (۱۰). طبق توصیه سازمان غذا و داروی آمریکا مقدار آن در شیر و محصولات غذایی کودکان نباید بیشتر از۰/۰۲۵ppb باشد. با توجه به اینکه در کشور ما هیچ محدوده مجازی برای میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر تعیین نشده است و همچنین کشور ما از نظر جغرافیایی در منطقه نیمه گرمسیری که اکولوژی دما ورطوبت از عوامل تأثیرگذار در سطح آلودگی AFM_1 می‌باشد قرار دارد، آلودگی شیر و فرآورده‌های آن به آفلاتوکسین M_1 خطر بزرگی برای سلامت جامعه محسوب می‌شود. هدف اصلی از انجام این مطالعه بررسی و اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین M_1 در شیرهای پاستوریزه تولید شده در استان کرمان به روش HPLC بود، زیرا میزان آفلاتوکسین M_1 در شیرهای تولید شده استان کرمان تا کنون بررسی و اندازه‌گیری نشده است و همچنین با توجه به این‌که کرمان از نظر جغرافیایی در منطقه گرمسیر ایران قرار دارد، احتمال وجود

آفلاتوکسین M_1 در شیرهای این استان اهمیت انجام این تحقیق را دو چندان می‌کند.

روش بررسی

جمع‌آوری نمونه‌های شیر

نمونه‌های شیر پاستوریزه یارانه‌ای در فصل زمستان که امکان بیشترین آلودگی وجود دارد، از ۵ کارخانه مختلف تولیدکننده شیر استان کرمان به نام‌های پگاه کرمان، پارس بردسیر، شبان شهربابک، پگاه جیرفت و مسکه سیرجان به‌طور تصادفی در هر هفته از ماه‌های دی، بهمن و اسفند در آخرین مرحله تولید و قبل از ورود محصول به بازار مصرف جمع‌آوری شده، داخل یخدان در دمای حدود ۲-۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شده و به آزمایشگاه منتقل گردید (۱۱). بر اساس گزارش کارخانه‌ها میزان تولید متوسط روزانه حدود پانزده تن بود، که در هرهفته یک نمونه از هر کارخانه جمع‌آوری گردید. از کارخانه پگاه کرمان به دلیل حجم بالای تولید دو نمونه در هفته جمع‌آوری شد. ضمنا سه نمونه شیر پاستوریزه از استان تهران و یزد برای بررسی هم‌زمان میزان آفلاتوکسین M_1 در خارج از استان کرمان در پایان هر ماه، جمع‌آوری شد. سپس نمونه‌های یک لیتری شیر پاستوریزه در دمای ۴ °C به آزمایشگاه ارسال شد.

تعیین میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر

ابتدا ۶۰ میلی‌لیتر شیر با سرعت ۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده وچربی از نمونه جدا شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر از شیر بدون چربی از ستون ایمونوافینتی دارای آنتی‌بادی‌های ویژه آفلاتوکسین M_1 عبور داده شد. سپس ستون با آب دیونیزه شسته شد. در مرحله بعدآفلاتوکسین M_1 موجود در ستون با حلال استونیتریل خارج شده و تغلیظ گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه و استانداردها برای کار با روش HPLC مورد استفاده قرار گرفت. شرایط روش به شرح زیر بود:

۱. فاز متحرک: مخلوط آب - استونیتریل - متانول به نسبت ۶ :۲ : ۲

۲. فاز ساکن: ستون ODS-2

۳. محفظه تزریق ۲۰۰ میکرولیتری

۴. آشکارساز فلورسانس: طول موج تهییج ۳۶۶ نانومتر و نشر ۴۳۵ نانومتر

۲۰۰ میکرولیتر از نمونه و استانداردها با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵، ۱، ۲، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ ppb به دستگاه HPLC ترزیق، پیک‌های مربوطه گرفته شده و غلظت نمونه‌های مجهول با استفاده از منحنی کالیبراسیون محاسبه شد (استاندارد ملی ایران شماره ۷۱۳۳) (۱۲).

نتایج

در مجموع ۷۶ نمونه شیر پاستوریزه از هفت کارخانه تولیدکننده شیر به شرح جدول ۱ مورد بررسی قرار گرفتند. (جدول ۱).

جدول ۱. *تعداد نمونه‌ها و مشخصات کارخانه‌های تولیدکننده شیر*

نام و محل کارخانه / تعداد نمونه‌ها	دی‌ماه	بهمن‌ماه	اسفندماه
پگاه کرمان	۸	۸	۸
مسکه سیرجان	۴	۳	۴
شبان شهربابک	۳	۴	۴
پارس بردسیر	۴	۴	۴
پگاه جیرفت	۳	۲	۴
دامداران تهران	۱	۱	۱
چوپان تهران	۱	۱	۱
ایساتیس یزد	۱	۱	۱
جمع	**۲۵**	**۲۴**	**۲۷**

جدول ۲. *میزان (Mean±SEM) آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های شیر استان کرمان و در نمونه‌های شیر خارج از استان کرمان در زمستان سال ۱۳۸۶*

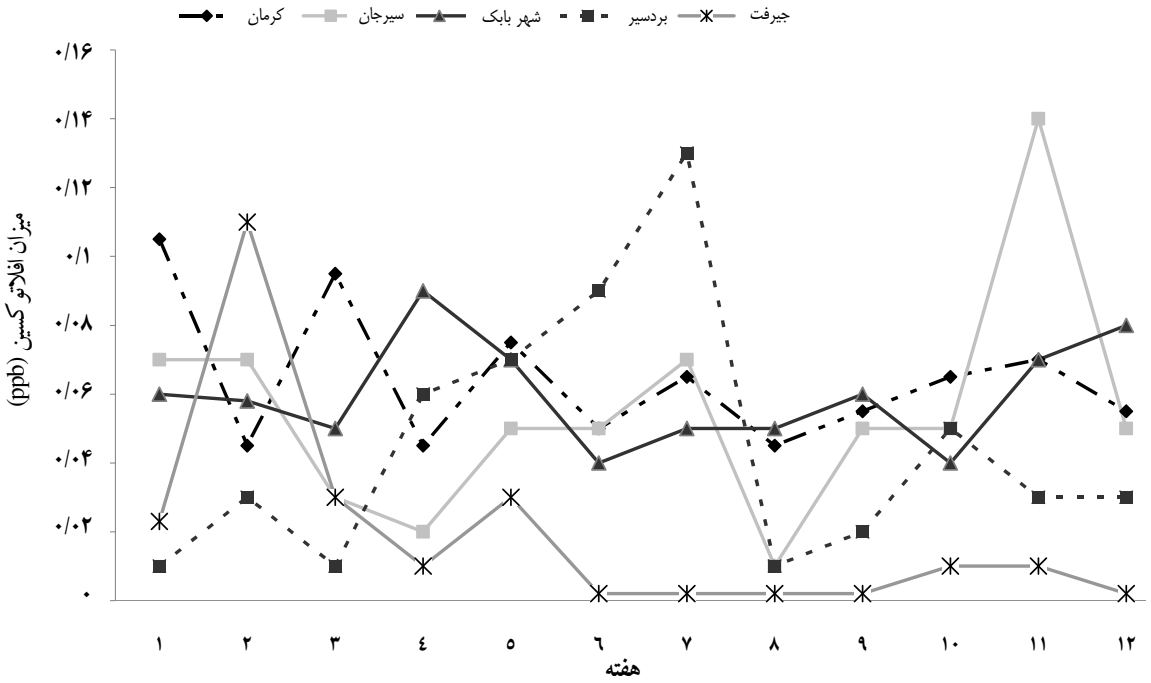
میزان آفلاتوکسین M_1 (ppb) / کارخانه	دی	بهمن	اسفند
پگاه کرمان	۰/۰۷۳ ± ۰/۰۳	۰/۰۵۹ ± ۰/۰۱	۰/۰۶۱ ± ۰/۰۱
مسکه سیرجان	۰/۰۴۸ ± ۰/۰۳	۰/۰۴۵ ± ۰/۰۳	۰/۰۷۳ ± ۰/۰۵
شبان شهربابک	۰/۰۶۵ ± ۰/۰۲	۰/۰۵۳ ± ۰/۰۱	۰/۰۶۳ ± ۰/۰۲
پارس بردسیر	۰/۰۲۸ ± ۰/۰۲	۰/۰۷۵ ± ۰/۰۵	۰/۰۳۳ ± ۰/۰۱
پگاه جیرفت	۰/۰۴۳ ± ۰/۰۵	۰/۰۰۹ ± ۰/۰۱	۰/۰۰۶ ± ۰/۰۱
دامداران تهران	۰/۱۱۱	۰/۰۳۲	۰/۰۴۱
چوپان تهران	۰/۰۷۰	۰/۰۲۴	۰/۰۳۲
ایساتیس یزد	۰/۱۱۳	۰/۰۲۱	۰/۰۸۳

جدول ۳. *فراوانی نمونه‌های مثبت آفلاتوکسین M_1 در هر کارخانه در استان کرمان در زمستان ۱۳۸۶*

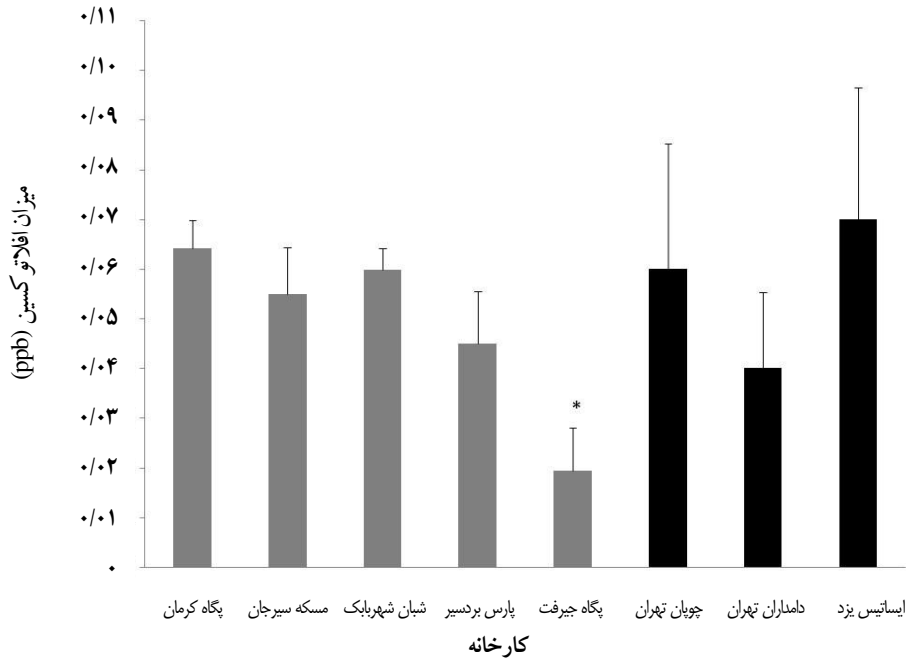
فراوانی نمونه مثبت* / کارخانه	دی تعداد (درصد)	بهمن تعداد (درصد)	اسفند تعداد (درصد)
پگاه کرمان	۵ (٪۶۲)	۴ (٪۵۰)	۶ (٪۷۵)
مسکه سیرجان	۲ (٪۵۰)	۱ (٪۳۳)	۱ (٪۲۵)
شبان شهر بابک	۲ (٪۶۷)	۱ (٪۲۵)	۳ (٪۷۵)
پارس بردسیر	۱ (٪۲۵)	۳ (٪۷۵)	۰ (٪۰)
پگاه جیرفت	۱ (٪۳۳)	۰ (٪۰)	۰ (٪۰)

* میزان آفلاتوکسین M_1 بیشتر از ۰/۰۵ppb

مقدار آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه در هر کارخانه استان کرمان در ماه‌های دی، بهمن و اسفند به صورت میانگین (Mean ± SEM) در جدول ۲ به تفکیک آمده است. از آنجا که از کارخانه‌های خارج استان فقط یک نمونه در هر ماه گرفته شده است، بنابراین همان نتیجه در جدول آمده است. درصد و تعداد نمونه‌های شیر هر کارخانه در سه ماهه زمستان که حاوی آفلاتوکسین M_1 بیشتر از ۰/۰۵ppb بودند (حد مجاز پذیرفته شده توسط اتحادیه اروپا) در جدول ۳ منعکس شده است. روند تغییرات میزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه کارخانه‌های استان کرمان در دوازده هفته زمستان با هم مقایسه شد که در نمودار ۱ نشان داده شده است. مقدار متوسط (Mean ± SEM) آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه در کارخانه‌های استان کرمان و خارج استان کرمان درفصل زمستان با هم مقایسه شد. میانگین آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه کارخانه جیرفت با میانگین مربوطه در سایر کارخانجات توسط آنالیز آماری ANOVA مورد مقایسه قرار گرفت که تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید ($P<0/05$).



شکل ۱. *روند تغییرات میزان آفلاتوکسین M_1 درنمونه‌های شیر پاستوریزه کارخانه‌های استان کرمان در هفته‌های مختلف زمستان ۱۳۸۶*



شکل ۲. *مقدار متوسط (Mean±SEM) آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه در هر کارخانه در زمستان ۱۳۸۶*

* P<۰/۰۵

بحث

تشکیل مایکوتوکسین‌ها از کپک‌ها در غذا یک مشکل جهانی محسوب می‌شود و بر اساس آمار سازمان کشاورزی و غذای سازمان ملل متحد تقریباً ۲۵ درصد دانه‌های زراعی جهان آلوده به مایکوتوکسین‌ها هستند و طبق گزارش WHO مایکوتوکسین‌ها به‌ویژه آفلاتوکسین یکی از عوامل مؤثر در بروز بیمارهای ناشی از غذا می‌باشند. فرآورده‌های شیر، از این نظر دارای حساسیت و اهمیت خاصی می‌باشند. مطالعات مختلفی برای تعیین سطح آفلاتوکسین M_1 با روش‌های گوناگون در شیر و فرآورده‌های لبنی در سطح دنیا انجام شده است که شامل تعیین سطح آفلاتوکسین M_1 با سه روش TLC (۴،۱۳،۱۴)، ELISA (۱۹-۱۵، ۱۱) و HPLC (۱۲،۲۱،۲۲) می‌باشند که در این بین روش HPLC از بیشترین دقت برخوردار است. در ایران فقط در یک مطالعه که توسط تاج کریمی و همکاران انجام شده است از روش HPLC استفاده شده است. در مطالعه مذکور از فروردین ۱۳۸۲ تا بهمن ۱۳۸۳، ۹۸ نمونه از شیر خام تانکرهای شیر در کارخانجات لبنیات در ۴ منطقه از ایران (تهران، همدان، شیراز و رشت) جمع‌آوری شده، که این ۴ منطقه در محدوده ۴۰۰ کیلومتری از یکدیگر با اکولوژی‌های مختلف (دما، رطوبت و غیره) و محصولات کشاورزی مختلف که به‌عنوان غذای دام از آن استفاده می‌شود انتخاب شده بودند. بر اساس نتایج ۶۱ نمونه از ۹۸ نمونه دارای ppb۰/۰۵-۰/۰۰، ۲۹ نمونه حاوی ppb۰/۱-۰/۰۵ و ۸ نمونه دارای ppb ۰/۳۹-۰/۱ آفلاتوکسین M_1 بودند که همه نمونه‌ها کمتر از مقدار مجاز توصیه شده توسط FDA (ppb۰/۵) بودند (۲۱).

در شهر سراب استان آذربایجان غربی در سال ۸۴-۸۳ میزان آفلاتوکسین M_1 ۱۱۱ نمونه شیر خام با روش TLC اندازه‌گیری شد. در ۷۶٪ کل نمونه‌ها میزان آفلاتوکسین بین ppb۰/۲۸-۰/۰۱۵ بود و ۴۰٪ نمونه‌ها حاوی آفلاتوکسین M_1 بیشتر از ppb۰/۰۵ بودند (۱۳). در شهر شیراز در سال ۱۳۸۳ در ۶۲۴ نمونه شیر پاستوریزه جمع‌آوری شده در شش ماهه تابستان، آفلاتوکسین M_1 به روش ELISA اندازه‌گیری شد که ۱۰۰٪ نمونه‌ها آلوده به آفلاتوکسین M_1 بود و در ۱۷/۸٪ از نمونه‌ها سطح آفلاتوکسین M_1 بیش از حد استاندارد ppb ۰/۰۵ بود (۱۵).

در آنتالیا ترکیه در سال ۲۰۰۶ بر روی ۲۷ نمونه شیر استریلیزه جهت بررسی آفلاتوکسین M_1 با روش HPLC تحقیقی انجام شد که ۵۹/۳٪ درصد نمونه‌ها مثبت گزارش شدند (۱۲).

در مطالعه حاضر با توجه به اینکه از روش HPLC استفاده شد و LOQ روش برابر ppb۰/۰۰۲ محاسبه شد، محدوده میزان آفلاتوکسین M_1 در شیر بین ppb۰/۱۴-۰/۰۰۲ بود که در کارخانه های استان کرمان کمترین مقدار میانگین آفلاتوکسین M_1 مربوط به شیر کارخانه پگاه جیرفت در اسفندماه (ppb۰/۰۰۵ ± ۰/۰۰۶) و بیشترین مقدار مربوط به کارخانه پارس بردسیر در بهمن ماه (ppb۰/۰۵ ± ۰/۰۷۵) بود. نمونه‌های شیر مربوط به کارخانه دامداران تهران و کارخانه ایساتیس یزد در دی‌ماه نیز حاوی مقدار بالای آفلاتوکسین M_1 بودند (جدول ۲).

میزان آفلاتوکسین M_1 در همه نمونه‌های شیر پاستوریزه مربوط به کارخانه‌های استان کرمان کمتر از حد مجاز توصیه شده توسط FDA (ppb۰/۵) بود ولی با توجه به حد مجاز توصیه شده توسط اتحادیه اروپا (ppb۰/۰۵) میزان آفلاتوکسین M_1 در ۴۴/۷٪ کل نمونه‌های شیر جمع‌آوری شده بیشتر از حد مجاز (بین ppb۰/۵-۰/۰۵) می‌باشد. در شکل ۱ روند تغییرات میزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه کارخانه‌های استان کرمان در هفته‌های مختلف زمستان نشان داده شده است که در کارخانه‌های جیرفت، بردسیر و سیرجان سطح آفلاتوکسین M_1 در شیر پایین است و فقط در یک یا دو هفته از دوازده هفته این سطح افزایش چشمگیری داشته است که ممکن است ناشی از یک منبع آلوده‌کننده بوده، در حالی که در کارخانه‌های پگاه کرمان و شبان شهربابک، متوسط این سطح در بیشتر

هفته‌ها نسبتاً بالا است. در شکل ۲ نشان داده شده که میـزان آفلاتوکسین M_1 در نمونه‌های شیر پاستوریزه کارخانه پگاه جیرفت نسبت به بقیه کارخانه‌ها به طور معنـی‌داری کمتـر بوده است ($P<۰/۰۵$). با توجه به اینکـه تعـداد نمونـه‌هـای جمع‌آوری شده از کارخانه‌های دامداران و چوپان تهـران و ایساتیس یزد کمتر بوده است لـذا انحـراف معیـار میـزان آفلاتوکسین M_1 بیـشتر از کارخانـه‌هـای اسـتان کرمـان میباشد.

میزان آفلاتوکسین M_1 شیر پاسـتوریزه کارخانـه‌هـای چوپان و دامداران تهران و نیز شیر پاستوریزه ایساتیس یـزد که به‌طور مرتب در سطح شهر کرمان توزیع مـی‌شـوند در دی‌ماه از سطح مجاز اتحادیه اروپا بالاتر بوده، در حالی کـه در بهمن و اسفند ماه کمتر از این حد مجاز بود (به جز یـزد در اسفند که بالاتر از حد مجاز اروپا می‌باشد) و در هیچ‌یک از موارد مقدار آفلاتوکسین M_1 در شیر محصولات خارج از استان از حد مجاز FDA فراتر نرفته است. نکته جالب توجـه آن است که در دی‌ماه، میـزان آفلاتوکـسین در شـیرهای خارج از استان از شیرهای استان کرمان بالاتر در بهمن مـاه پایین‌تر و در اسفند ماه در برخی موارد بـالاتر و در برخـی موارد پایین‌تر بود.

به‌طورکلی شاید هیچ ماده غذایی وجود ندارد که به طور قطعی و صد درصد از امکان آلودگی به قارچ‌ها بدور باشـد. باید در نظر داشت که سموم قارچی می‌توانند در مزرعه، در طول برداشت محصول، عمل‌آوری، ذخیـره و حتـی حمـل محصول تولید شوند. به‌طورکلی ورود سموم قارچی در شـیر به دو صورت آلودگی مستقیم و آلودگی غیرمستقیم امکان پذیر است. آزمایشات نشان می‌دهـد کـه تقریبـاً ۶/۲-۰/۳ درصد آفلاتوکـسین B_1 دریـافتی از غـذای آلـوده توسـط حیوانات به‌صورت آفلاتوکـسین M_1 در مـی‌آیـد کـه در حیوانات یک گلـه و در فـصول مختلـف سـال متفـاوت است (۲).

آفلاتوکسین M_1 در فصل زمستان نسبت به سایر فصول بیشتر مشاهده می‌شود زیرا گاوها در زمـستان از ترکیبـات علوفه و غذاهای انبار شده که اغلب حاوی آفلاتوکـسین B_1 است بیشتر استفاده می‌کنند در حالی که در فـصل بهـار و تابستان بیشتر علف تازه استفاده می‌کنند. به همین جهت در مطالعه حاضـر نمونـه‌هـا در فـصل زمـستان جمـع‌آوری شدند (۱۳،۱۷،۲۱).

با توجه به نتایج به‌دست آمده روند تغییرات آلودگی در طول سه ماه به گونه ایست کـه بـه‌نظـر مـی‌رسـد منـابع آلوده‌کننده غذای دام متفاوت است. برخی از مـواد غـذایی نظیر بادام‌زمینی، آرد ذرت، سویا، پـودر مـاهی، دانـه‌هـای روغنی، گیاهان علوفه‌ای و مواد غذایی کپک‌زده مانند نـان کپک‌زده از جمله مواد دربردارنده سموم قـارچی گـزارش شده‌اند. همچنین مشخص شده است در صورتی کـه غـذای گاوهای آلوده به آفلاتوکسین B_1 باشد ترشح آفلاتوکـسین M_1 در شیر نسبتاً سریع است به طوری که آفلاتوکسین M_1، ۲۴-۱۲ ساعت بعد از مصرف اولـین جیـره غـذای حـاوی آفلاتوکسین B_1 در شیر ترشح می‌شود و ۷۲ ساعت بعـد از حذف جیره غذایی آلـوده، آفلاتوکـسین از شـیر حـذف می‌شود (۲۲). محققین در مطالعات مختلف در ارتباط بـا اثـر مواد شیمیایی مختلف جهت غیرفعـال کـردن آفلاتوکـسین به‌این نتیجه رسیدند که بیشتر این مواد به‌دلیل بـاقی مانـدن در مواد غذایی امنیت لازم را ندارند و مطالعـات نـشان داده کـه روش‌های فیزیکی مثل حرارت، استفاده از اشعه‌هـای گامـا، ایکس و ماوراءبنفش چندان در زدودن آفلاتوکـسین مـؤثر نیستند (۲). همچنین نتایج حاصل از این مطالعه نـشان داد کـه نیمی از شیرهای پاستوریزه توزیع شده با استانداردهای اتحادیه اروپا منطبق نبوده، به همین دلیل باید در زمینه ارتقای سلامت افراد جامعه و رساندن کیفیت بهداشتی شیرهای پاستوریزه بـه سـطح اسـتاندارد تـلاش نمـود. ارتقـای سـطح فرهنـگ تولیدکنندگان این فرآورده درمورد رعایت اصول و مـوازین بهداشتی تهیه شیرهای پاستوریزه، نگهداری علوفـه دام‌هـا و

جلوگیری از آلودگی‌های قارچی آنها از مسائل عمده می‌باشند.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی کرمان (۸۷/۰۲) و کارخانه شیر پاستوریزه پگاه کرمان انجام شده است که از آنها تشکر و قدردانی می‌شود. از سرکار خانم مهندس مظهری، مسئول فنی محترم کارخانه شیر پگاه کرمان و همچنین شرکت مرجعان خاتم و به‌ویژه سرکار خانم مهندس مشکانی نیز که در اجرای این پروژه همکاری صمیمانه داشته‌اند کمال تشکر می‌شود.

Determination of Aflatoxin M1 in Pasteurized Milk Consumed in Kerman Province

Pournourmohammadi Sh., Ph.D.[1], Ansari M., Ph.D.[*2], Nezakati Alfata L., B.Sc.[3], Kazemipour M., Ph.D.[4], Hasibi M., Pharm. D.[5]

1. Assistant Professor of Toxicology, School of Pharmacy, Pharmaceutics Research Center & Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Associate professor of Pharmaceutics, School of pharmacy, Pharmaceutics Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. M.Sc. Student of Toxicology, School of Pharmacy, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
4. Associate Professor of Analytical Chemistry, Islamic Azad University, Kerman Branch, Kerman, Iran
5. Pharmacist, Food Control Office, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

* Corresponding author, e-mail: Mansari@kmu.ac.ir

(Received 29 April 2008 Accepted 11 Dec. 2008)

Abstract

Background & Aims: Aflatoxin M_1 (AFM_1) is a major metabolite of aflatoxin B_1 detected in the milk of mammals that their foods have been contaminated with aflatoxins. Aflatoxins are a group of highly toxic metabolites produced by the common fungi *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*. They are among the most potent carcinogens found in foods. Considering its risk to the human health and high consumption of milk and diary products, this study was undertaken to determine the level of AFM_1in pasteurized milk in Kerman province for the first time.

Method: From 19 Dec. 2007 to 19 March 2008, a total of 76 pasteurized milk samples produced by eight factories were collected and checked for the level of AFM_1 using immunoaffinity column and high-performance liquid chromatography coupled to fluorimetric detector.

Results: The minimum detected level was 0.002 ppb and the amount of AFM_1 in milk samples ranged from 0.002 to 0.14 ppb. No sample had greater AFM_1 levels than the maximum allowed levels in milk accepted by FDA (o.5ppb), however, in 34 (44.7%) samples AFM_1 level was over the maximum allowed limit in milk accepted by the European Union (0.05ppb). Mean AFM_1 level in milk samples obtained from Jiroft factory was the least (0.019±0.01ppb) compared to that for other factories.

Conclusion: Although the amount of AFM_1 in samples selected from commonly consumed milks in Kerman province, does not appear to create a serious public health problem at present, because of high consumption of milk and diary products especially in children it is necessary to consider it as a serious health problem.

Keywords: Milk, Aflatoxin M_1, HPLC, Kerman

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2009; 16(3): 271-280

References

1. Frisvad JC, Skouboe P, Samson RA. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B_1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* 2005; 28(5): 442-53.

2. Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett* 2002a; 127(1-3): 19-28.

3. Faletto MB, Gurtoo HL. The effect of inducers of mixed-function oxidases on hepatic microsome-mediated aflatoxin B_1 transformation in $C_3H/10T_1/2$ cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989; 98(2): 252-62.

4. Bakirci I. A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control* 2001; 12(1): 47-51.

5. Galvano F, Galofaro V, Galvano G. Occurrence and stability of aflatoxin M_1 in milk and milk products: A worldwide review. *Journal of Food protection* 1996; 59: 1079-90.

6. Gourama N, Bullerman LB. *Aspergillus flavous* and *Aspergillus parasiticus*: Aflatoxigenic fungi of concern in foods and feeds: A review. *Journal of Food protection* 1995; 58: 1395-404.

7. Cullen JM, Ruebner BH, Hsieh LS, Hyde DM, Hsieh DP. Carcinogenicity of dietary aflatoxin M_1 in male Fischer rats compared to aflatoxin B1. *Cancer Res* 1987; 47(7): 1913-7.

8. Renwick A.G. FAO/WHO. Forty-ninth report of the joint FAO/WHO expert committee of food additives: Evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Technical report series 1999; 884: 69-77.

9. European Commission. Commission Regulation 2001/466/EC of 8 March 2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (text with EEA relevance). *Off J Eur Commun* 2001; L77: 1-13.

10. Berg T. How to establish international limits for mycotoxins in food and feed? *Food Control* 2003; 14: 219-24.

11. Torkar KG, Vengust A. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M_1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control* 2008; 19(6): 570-7.

12. Gürbay A, Aydin S, Girgin G, Engin AB, Sahin G. Assessment of aflatoxin M_1 levels in milk in Ankara, Turkey. *Food Control* 2006; 17(1): 1-4.

13. Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control* 2005; 16(7): 593-9.

14. Assahara M, Pontes Netto D, Yanaka EK. Aflatoxin occurrence in foodstuff supplied to dairy cattle and aflatoxin M_1 in raw milk in the North of Paraná state. Food and Chemical Toxicology 2005; 43: 981-984.

15. Alborzi S, Pourabbas B, Rashidi M, Astaneh B. Aflatoxin M_1 contamination in pasteurized milk in Shiraz (south of Iran). *Food Control* 2006; 17(7): 582-584.

16. Kaniou-Grigoriadou I, Eleftheriadou A, Mouratidou T, Katikou P. Determination of aflatoxin M_1 in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food Control* 2005; 16(3): 257-61.

17. López CE, Ramos LL, Ramadán SS, Bulacio LC. Presence of aflatoxin M_1 in milk for human consumption in Argentina. *Food Control* 2003; 14(1): 31-4.

18. Rastogi S, Dwivedi PD, Khanna SK, Das M. Detection of Aflatoxin M_1 contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control* 2004; 15(4): 287-90.

19. Unusan N. Occurrence of aflatoxin M_1 in UHT milk in Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 2006; 44(11): 1897-900.

20. Zinedine A, González-Osnaya L, Soriano JM ،Moltó JC, Idrissi L, Mañes J. Presence of aflatoxin M_1 in pasteurized milk from Morocco. *Int J Food Microbiol* 2007; 114(1): 25-9.

21. Tajkarimi M, Shojaee Aliabadi F, Salah Nejad M, Pursoltani H, Motallebi AA, Mahdavi H. Seasonal study of aflatoxin M_1 contamination in milk in five regions in Iran. *Int J Food Microbiol* 2007; 116(3): 346-9.

22. Van Egmond HP. Aflatoxin M_1: occurence, toxicity, regulation. New York, Elsevier Applied Science, 1989.