

## بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در پنیر پاستوریزه عرضه شده دو کارخانه تولیدکننده فرآورده‌های لبنی در شهر تهران با روش الیزا

دکتر حمیدرضا توکلی<sup>۱</sup>، دکتر مجید ریاضی‌پور<sup>۲\*</sup>، دکتر حسن رفعتی<sup>۳</sup>، سیمین نقوی<sup>۱</sup>، حسین رستمی<sup>۱</sup>، دکتر مژگان سقزاده<sup>۵</sup>

۱- گروه تغذیه، مرکز تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) ۲- مرکز تحقیقات کاربرد درمانی توکسین‌های میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، ۳- گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) ۴- مرکز تحقیقات تروما، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج) ۵- گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

\* نویسنده مسؤول: تهران، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه... (عج)، مرکز تحقیقات کاربرد درمانی توکسین‌های میکروبی. تلفن: ۰۹۱۲۳۸۴۵۸۲۳  
پست الکترونیک: mriazipour@yahoo.com

دریافت: ۸۹/۳/۱۰ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲

### چکیده

**مقدمه:** آفلاتوکسین M1 یکی از شایع‌ترین سموم قارچی است که غالباً در فرآورده‌های شیری یافت می‌گردد و عوارض خطرناکی را به همراه دارد. هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی به آفلاتوکسین M1 در پنیر پاستوریزه عرضه شده توسط دو کارخانه تولیدکننده فرآورده‌های لبنی در شهر تهران می‌باشد.

**روش کار:** در این مطالعه مقطعی، ۱۰۰ نمونه پنیر پاستوریزه تولید شده توسط دو کارخانه مختلف در دو فصل تابستان و زمستان به طور تصادفی انتخاب و با استفاده از روش ELISA از نظر آلودگی به آفلاتوکسین M1 بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون‌های آماری *t-test* و *Man-withiney* مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته‌ها:** AFMI در ۶۲٪ از نمونه‌های مورد آزمایش یافت شد و متوسط مقدار آفلاتوکسین  $ng/kg$   $(\pm 51/90)$   $53/39$  تعیین گردید. تنها ۶ نمونه (۹/۳٪ موارد مثبت) دارای آلودگی بیش از حد مجاز استاندارد ایران ( $20 \cdot ng/kg$ ) بودند. میانگین AFMI در نمونه‌های جمع‌آوری شده در تابستان به طور معناداری ( $p < 0/03$ ) کمتر از نمونه‌های جمع‌آوری شده در زمستان بود.

**نتیجه‌گیری:** درصد قابل توجهی از پنیرهای تولیدشده توسط کارخانجات مختلف در ایران دارای آلودگی به آفلاتوکسین M1 هستند که می‌تواند سلامت عموم جامعه را تهدید نماید. کنترل و نظارت بیشتر بر خوراک دام و شرکت‌های تولیدکننده این محصولات می‌تواند در کاهش میزان آلودگی فرآورده‌های شیری به این مایکوتوکسین مؤثر باشد.

**کل واژگان:** آفلاتوکسین M1، پنیر پاستوریزه، فرآورده‌های لبنی، ELISA

### مقدمه

انسان به طور غیرمستقیم با مصرف فرآورده‌های دامی به ویژه فرآورده‌های شیری مانند پنیر در معرض عوارض آفلاتوکسین‌ها قرار می‌گیرد. این سموم عوارض خطرناکی همچون مسمومیت مزمن، سرطان‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی را به دنبال دارند (۵). علی‌رغم اینکه سمیت آفلاتوکسین M1 به مراتب کمتر از آفلاتوکسین B1 است، ولی با توجه به جمعیت مصرف‌کننده مواد لبنی این موضوع از اهمیت زیادی برخوردار است (۵ و ۶). در ایران مطالعات متعددی در مورد اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها در محصولات لبنی مانند شیر و پنیر انجام شده است که از آن

آفلاتوکسین‌ها گروه بزرگی از مایکوتوکسین‌ها هستند که به دنبال رشد برخی از گونه‌های آسپرژیلوس نظیر آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس در مواد غذایی به ویژه در حبوبات و غلات تولید می‌شوند. گونه‌های آسپرژیلوس انواع آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1، G2 را تولید می‌کنند که در بین آنها B1 از سمی‌ترین برخوردار است و بیش از سایر انواع آفلاتوکسین در غذا و علوفه کپک‌زده یافت می‌شود (۱ و ۲). پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون و فرآوری شیر تأثیری بر کاهش سمیت و بقای آفلاتوکسین M1 ندارد (۳ و ۴). بنابراین

صورت تصادفی و در چندین نوبت با فاصله زمانی یک ماه و از تولیدات مختلف این دو کارخانه در دو فصل مختلف جمع‌آوری گردید. پس از نمونه‌برداری و انتقال آنها به آزمایشگاه، مراحل آماده‌سازی و اندازه‌گیری مقدار AFM1 در آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی به شرح زیر انجام پذیرفت:

۵۰ گرم از هر نمونه پنیر، بدون افزودن آب، کاملاً مخلوط و یکنواخت گردید. سپس ۲ گرم از آن (که با استفاده از ترازوی دیجیتالی اندازه‌گیری شده بود) در داخل لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتری قرار گرفته و برای عصاره‌گیری بکار رفت. طبق دستورالعمل کیت الیزا که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت، به منظور استخراج سم آفلاتوکسین M1 از نمونه‌های پنیر، عصاره‌گیری با استفاده از حلال دی‌کلرومتان خالص (Merk) انجام شد. برای عصاره‌گیری، به لوله فالکون حاوی ۲ گرم از نمونه پنیر، ۴۰ میلی‌لیتر حلال اضافه می‌گردید و با استفاده از همزن به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه مخلوط می‌شد. سپس لوله فالکون به مدت ۱۵ دقیقه به طور ثابت قرار می‌گرفت تا حلال در زیر و مواد شناور در سطح آن قرار گیرد. با کنار زدن لایه رویی، ۱۰ میلی‌لیتر از لایه زیرین با استفاده از پی‌پت برداشت و به لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل می‌شد و به منظور تبخیر حلال به مدت یک شب در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت. روز بعد به لوله فالکون حاوی باقی‌مانده روغنی شکل مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=7/2)، و یک میلی‌لیتر آن‌هپتان (مرک، آلمان) اضافه و کاملاً مخلوط می‌شد. سپس محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۲۷۰۰ سانتریفیوژ و لایه رویی آن (آن‌هپتان) دور ریخته می‌شد. سپس صد میکرولیتر از لایه متانول - آبی زیرین با ۴۰۰ میکرولیتر از بافر شماره ۱ تعبیه شده در کیت، مخلوط شده (با نسبت ۱ به ۵) و صد میکرولیتر از آن برای انجام الیزا استفاده می‌گردید. برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین موجود در نمونه‌ها از یک روش الیزای رقابتی استفاده گردید. برای این کار کیت RIDASCREEN® Aflatoxin M1 ۳۰/۱۵ R-Biopharm آلمان (Art. No.: R1111) تهیه و مراحل زیر طبق دستورالعمل ضمیمه شده در کیت انجام پذیرفت:

۱- به تعداد کافی و مورد نیاز چاهک کیت از بسته‌بندی خارج و در قالب مربوطه قرار گرفت. ۲- سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول حاصل از عصاره‌گیری پنیر در چاهک قرار گرفت. ۳- از استانداردهای شماره ۱ تا ۶ به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر داخل چاهک‌ها ریخته شد. ۴- پلیت به آرامی مخلوط و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی قرار

جمله می‌توان به مطالعه تاج کریمی و همکاران (۱۳۸۶) بر روی آلودگی فصلی AFM1 در شیر پنج منطقه ایران و مطالعه کامکار و همکاران (۱۳۸۵) بر روی آلودگی پنی‌های سفید به AFM1 اشاره نمود (۱ و ۳). کریم و همکاران (۱۳۸۷) با استفاده از روش HPLC سطوحی از آلودگی به آفلاتوکسین M1 را در آب پنیر، کشک و پنیر نشان دادند (۷) و فلاح و همکاران نیز (۱۳۸۸) با استفاده از روش ELISA وجود آفلاتوکسین M1 در دو نوع پنیر سفید و پنیر خامه‌ای را به ترتیب به میزان ۸۰/۱ و ۷۲/۳ درصد گزارش نمودند (۸). رحیمی و همکاران (۱۳۸۸) نیز آلودگی پنیر سنتی اصفهان به AFM1 را نشان دادند.

تمام کشورهای پیشرفته و بسیاری از کشورهای در حال توسعه از جمله ایران دارای مقررات مربوط به حد مجاز AFM1 هستند ولی متأسفانه در کشور ما مقررات مربوط به کنترل مایکوتوکسین‌ها در محصولات لبنی اجرا نمی‌گردد و لذا نتایج این قبیل مطالعات می‌تواند موجب جلب توجه مسؤولین مربوطه به اجرای این مقررات شود (۹). در بسیاری از کشورهای جهان به منظور آگاهی از میزان آلودگی فرآورده‌های لبنی مصرفی به AFM1 و اطمینان از سلامت این محصولات مطالعات فراوانی انجام گرفته که نتایج آنها نشان می‌دهد در برخی از این کشورها آلودگی به AFM1 به عنوان یک مشکل بهداشتی مطرح است و سلامت مردم جامعه را تهدید می‌کند. به عنوان مثال Aycicek و همکاران (۲۰۰۴) مقدار آفلاتوکسین M1 را در محصولات لبنی ترکیه تعیین نمودند. این مطالعه بر روی ۱۴۳ نمونه پنیر پاستوریزه (شامل ۴۹ نمونه پنیر خامه‌ای و ۹۴ نمونه پنیر سفید)، ۵۳۰ نمونه پنیر محلی و ۲۷ نمونه کره انجام شد که ۹۰/۵۸٪ نمونه‌ها آلوده بودند و ۸/۵۲٪ نمونه‌ها آلودگی بالای حد مجاز را نشان دادند (۱۰).

با توجه به اینکه بیشترین محصولات لبنی مصرفی مردم ایران توسط چند کارخانه خاص به ویژه دو کارخانه مشهور بررسی شده در این تحقیق تولید و عرضه می‌گردد، در این مطالعه پنیر عرضه شده توسط این دو کارخانه از نظر آلودگی به AFM1 مورد بررسی قرار گرفت. هدف از انجام این مطالعه اولاً اطلاع از وضعیت آلودگی این ماده غذایی پرمصرف در شهر تهران و ثانیاً ارزیابی روش الیزا در تشخیص آفلاتوکسین M1 در محصولات لبنی مانند پنیر بوده است.

## روش کار

در این مطالعه مقطعی تعداد ۱۰۰ نمونه پنیر پاستوریزه تولید شده توسط دو کارخانه تولید کننده فرآورده‌های لبنی در شهر تهران در دو فصل تابستان و زمستان (۵۰ نمونه در هر فصل) به مجله پژوهشی حکیم

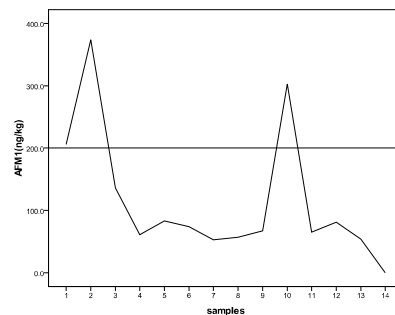
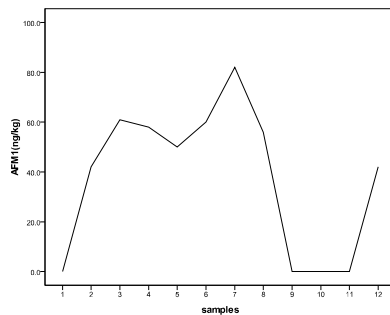
واکنش ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده اضافه و مخلوط گردید. ۱۰- پس از ۱۵ دقیقه، میزان جذب حفرات در طول موج ۴۵۰ نانومتر در مقابل بلانک هوا قرائت گردید. ۱۱- نهایتاً با رسم منحنی استاندارد و اعمال ضریب رقت، مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های مجهول محاسبه گشت.

## نتایج

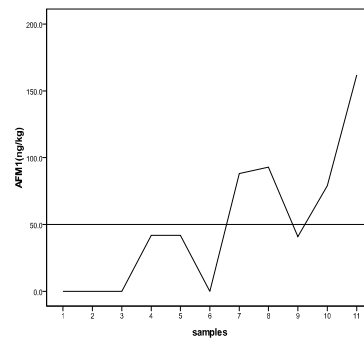
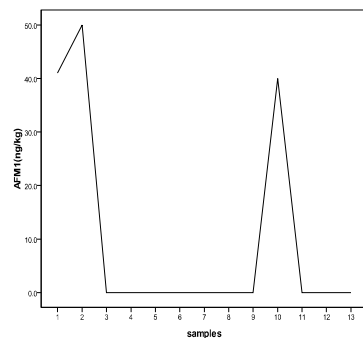
نتایج مربوط به مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر آزمایش شده بر حسب فصل و شرکت تولیدکننده محصول در جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- مقایسه مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر مورد آزمایش (ng/kg) بر حسب فصل و کارخانه تولیدکننده

نام کارخانه	تعداد نمونه	متوسط مقدار آفلاتوکسین در نمونه‌های تابستان	متوسط مقدار آفلاتوکسین در نمونه‌های زمستان	میانگین
کارخانه A	۵۰	۳۷/۸۰ (±۲۹/۷۵)	۱۱۵/۵۰ (±۱۰۶/۲۲)	۷۶/۶۵ (±۶۷/۹۸)
کارخانه B	۵۰	۱۰/۲۳ (±۱۹/۵۶)	۵۰/۰۴ (±۴۲/۱۰)	۳۰/۱۳ (±۳۵/۸۳)
میانگین (جمع)	۱۰۰	۲۴/۰۱ (±۲۴/۶۵)	۸۲/۷۷ (±۷۴/۱۶)	۵۳/۳۹ (±۵۱/۹۰)



نمودار ۱- مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر آزمایش شده (تابستان سمت چپ و زمستان سمت راست) شرکت A (ng/kg)



نمودار ۲- مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر آزمایش شده (تابستان سمت چپ و زمستان سمت راست) شرکت B (ng/kg)

توسط این دوکارخانه معنادار بوده است ( $p < 0.05$ ). همچنین ۶ نمونه (۹/۳٪ موارد مثبت) دارای آلودگی بیش از حد استاندارد تشخیص داده شد که هر ۴ نمونه مربوط به فصل زمستان بود. از نظر فصلی از ۵۰ نمونه گرفته شده در فصل تابستان در ۲۲ نمونه (۴۴٪) و از ۵۰ نمونه گرفته شده در فصل زمستان در ۴۰ نمونه (۸۰٪) آلودگی به AFM1 تأیید گردید و از نظر مقدار AFM1، غلظت آفلاتوکسین در نمونه‌های زمستان نزدیک

زمستان ۸۹، دوره سیزدهم، شماره چهارم

گرفت. ۵- مایع موجود در حفرات تخلیه و سپس داخل آنها سه بار با بافر شستشوی تعبیه شده درکیت شستشو گردید. ۶- سپس ۱۰۰ میکرولیتر از ماده کونژوگه آنزیمی که به نسبت ۱ به ۱۱ در بافر شماره ۲ رقیق شده بود، به هر یک از حفره‌ها اضافه و پس از مخلوط نمودن، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی قرار گرفت. ۷- مجدداً مایع موجود در حفرات تخلیه و داخل آنها سه بار با بافر شستشوی تعبیه شده درکیت شستشو گردید. ۸- سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوپسترای کروموژن اضافه و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی در دمای محیط گرمخانه‌گذاری گردید. ۹- برای ختم

در این مطالعه در ۶۲٪ از نمونه‌های مورد آزمایش، وجود AFM1 تأیید گردید و متوسط مقدار آفلاتوکسین M1 در ۱۰۰ نمونه پنیر پاستوریزه آزمایش شده،  $۵۳/۳۹ (\pm ۵۱/۹۰)$  نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید. بدین صورت که متوسط مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر شرکت‌های A و B به ترتیب  $۷۶/۶۵ (\pm ۶۷/۹۸)$  و  $۳۰/۱۳ (\pm ۳۰/۸۳)$  نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید و اختلاف مقدار AFM1 در پنیر تولید شده

به چهار برابر مقدار آن در نمونه‌های مربوط به فصل تابستان بوده است (جدول ۱) که از نظر آماری این اختلافات معنادار است ( $p < 0.05$ ). همچنین متوسط مقدار آفلاتوکسین M1 در نمونه‌های پنیر شرکت A در دو فصل تابستان و زمستان به ترتیب ( $29/75 \pm 37/80$ ) و ( $106/22 \pm 115/50$ ) نانوگرم در کیلوگرم و در نمونه‌های شرکت B در این دو فصل به ترتیب ( $19/56 \pm 10/23$ ) و ( $52/10 \pm 50/04$ ) نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید که این اختلاف در مورد نمونه‌های هر دو شرکت از نظر فصلی معنادار بوده است ( $p < 0.05$ ).

نتایج این مطالعه نشان داد مقدار AFM1 در نمونه‌های تولید و عرضه شده توسط کارخانه A (هم نمونه‌های گرفته شده در تابستان و هم نمونه‌های گرفته شده در زمستان) به طور معناداری بیش از مقدار AFM1 نمونه‌های تولید و عرضه شده توسط کارخانه B می‌باشد (نمودار ۱ و ۲).

### بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که ۶۲٪ از نمونه‌های پنیر عرضه شده توسط دو کارخانه تولید کننده محصولات لبنی به مقادیری از AFM1 آلوده هستند و در ۶ نمونه (۹/۳٪ موارد مثبت) آلودگی بیش از حد استاندارد ( $200 \text{ ng/kg}$ ) بوده است. متوسط میزان آفلاتوکسین M1 در نمونه پنیر  $53/39$  نانوگرم در کیلوگرم تعیین گردید که نشان دهنده آلوده بودن شیر اولیه مورد استفاده کارخانجات فوق برای تهیه این فرآورده لبنی است. در مطالعه‌ای که توسط کامکار و همکاران (۱۳۸۵) بر روی میزان آفلاتوکسین M1 موجود در پنیرهای سفید عرضه شده توسط کارخانجات مختلف در استان تهران انجام گرفت، از ۸۰ نمونه مورد بررسی، وجود AFM1 در  $83/3$ ٪ نمونه‌ها مورد تأیید قرار گرفت که در مقایسه با نتایج مطالعه ما میزان آلودگی بیشتر بوده است (۳). در آن مطالعه محدوده مقادیر آلودگی در ماه‌های مختلف سال متفاوت بوده است به طوری که بالاترین میانگین AFM1 در نمونه‌های ماه اسفند ( $291$  نانوگرم در کیلوگرم) و پایین‌ترین میانگین AFM1 در نمونه‌های شهریورماه ( $177$  نانوگرم در کیلوگرم) تعیین گردید و نشان داده شد که میانگین توکسین در نمونه‌های پنیر جمع‌آوری شده در فصول بهار و تابستان به طور معناداری پایین‌تر از نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصول پاییز و زمستان می‌باشد. در مطالعه ما نیز میزان آلودگی به AFM1 در نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل زمستان و تابستان به ترتیب  $82/77$  و  $24/01 \text{ ng/kg}$  تعیین گردید و در مورد نمونه‌های هر دو کارخانه مقدار AFM1

نمونه‌های مربوط به فصل زمستان به طور معناداری بیش از نمونه‌های تولید شده در فصل تابستان بود (نمودار ۱ و ۲).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر با نتایج مطالعات انجام شده توسط فلاح و همکاران و کریم و همکاران (۸ و ۷) که بر روی پنیرهای سفید و خامه‌ای ایران انجام گردید همخوانی و مطابقت دارد. در این مطالعات نیز آلودگی فرآورده‌های لبنی به ویژه انواع پنیر عرضه شده در بازار به AFM1 مورد تأیید قرار گرفته است و همچون مطالعه حاضر برای بررسی آلودگی به AFM1 از روش ELISA استفاده گردید که نشان می‌دهد این روش از روش‌های معتبر در تأیید آلودگی به آفلاتوکسین است. فلاح و همکاران ۲۱۰ نمونه پنیر شامل ۱۱۶ نمونه پنیر سفید و ۹۴ نمونه پنیر خامه‌ای عرضه شده در استان‌های اصفهان و یزد را با تکنیک ELISA بررسی نمودند که در ۱۶۱ نمونه (۸۰/۱٪) نمونه‌های پنیر سفید و  $72/3$ ٪ نمونه‌های پنیر خامه‌ای وجود مقادیر بیش از ۲۰۰ نانوگرم در کیلوگرم تأیید گردید و غلظت AFM1 در  $24/2$ ٪ نمونه‌ها بیش از حد استاندارد بوده است (۸) در این مطالعات نیز همچون مطالعه کامکار (۳) میزان آلودگی بیش از مطالعه ما بوده است. همچنین در مطالعه ما تعداد و درصد موارد آلودگی بیش از حد استاندارد ( $9/3$ ٪) کمتر از مطالعه فوق می‌باشد. رحیمی و همکاران نیز ۸۸ نمونه پنیر سنتی را بررسی نمودند که در ۴۷ نمونه ( $53/4$ ٪) وجود آفلاتوکسین M1 با غلظت  $1254 - 82$  نانوگرم در کیلوگرم تأیید گردید که درصد آلودگی نمونه‌های مورد آزمایش در این مطالعه تقریباً با درصد آلودگی نمونه‌های مطالعه ما مطابقت می‌نماید (۹). در این مطالعه نیز همچون مطالعه حاضر اختلاف آلودگی در نمونه‌های مربوط به فصول تابستان و زمستان معنادار بوده است به طوری که اختلاف مقدار آلودگی به AFM1 در نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل زمستان به طور معناداری بیش از حد مقدار آلودگی نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل تابستان ( $p < 0.05$ ) بوده است. نتایج سایر مطالعات انجام شده در داخل کشور مانند مطالعات تاج کریمی و همکاران (۱۳۸۶) و کریم و همکاران (۱۳۸۷) نیز آلودگی بالای شیر و انواع فرآورده‌های لبنی مانند پنیر، کشک و آب پنیر به AFM1 را تأیید می‌نماید (۱ و ۷).

در مطالعات انجام شده در سایر کشورها نیز آلودگی انواع پنیرهای مصرفی به AFM1 مورد تأیید قرار گرفته است. به عنوان مثال Elgerbi درلیبی (۲۰۰۴) وجود AFM1 در ۷۵٪ از نمونه‌های پنیر سفید نرم با میانگین  $520 - 110$  نانوگرم در کیلوگرم را تأیید نمود (۱۱). در آلمان kiermeier و همکاران ۱۹۷ نمونه پنیر پاستوریزه مورد آزمایش قرار دادند و در ۱۳۶

این موضوع به دلیل توجه بیشتر مسؤولین بهداشتی به این امر بوده است. با این وجود با توجه به نتایج مطالعات انجام شده در کشور در زمینه آلودگی فرآورده‌های لبنی به AFM1 به ویژه نتایج حاصل از مطالعه اخیر می‌توان ادعا نمود که وضعیت آلودگی پنیر به آفلاتوکسین در ایران نامطلوب بوده و با توجه به عوارض حاصل از این سم قارچی (مسمومیت مزمن، سرطان‌زایی و ناقص‌الخلقه‌زایی) بایستی اقدامات مؤثری برای کنترل آلودگی به AFM1 در محصولات لبنی صورت پذیرد. پیشنهادات زیر می‌تواند در کاهش آلودگی فرآورده‌های شیری به ویژه پنیر مؤثر واقع گردد.

۱- کنترل جیره غذایی دام‌های شیری: کنترل آلودگی جیره غذایی و مواد مصرفی دام‌های شیری و دادن غذای سالم به آنها، می‌تواند در تولید شیرهای فاقد سم، یا شیرهای دارای حداقل آلودگی بسیار مؤثر باشد. مواد غذایی مورد مصرف دام‌ها (مخصوصاً دام‌های شیری) بایستی از نظر آلودگی‌های آفلاتوکسین (به خصوص AFB1) مورد بررسی قرار گرفته و در صورت آلوده بودن از گردونه مصرف خارج گردد (۲۳). علوفه مصرفی دام‌ها بایستی در شرایط خشک و خنک نگهداری گردند زیرا مقدار این سم در شیر و پنیر... بستگی به مقدار سم در علوفه دارد.

۲- آموزش: آموزش دامداران به منظور عدم استفاده از علوفه مانده و کپک زده در تغذیه دام‌های شیری و کنترل و نظارت بیشتر بر مراکز دریافت شیر خام و کارخانه‌های تولیدکننده محصولات لبنی به منظور عدم استفاده از شیر دارای آفلاتوکسین بالاتر از حد مجاز نیز می‌تواند در کنترل آلودگی فرآورده‌های لبنی مؤثر واقع گردد.

۳- کنترل و نظارت کارخانه‌های تولیدکننده محصولات لبنی: کنترل منظم این کارخانجات همراه با نمونه‌گیری تصادفی از محصولات عرضه شده توسط آنها در بازار از نظر آلودگی به AFM1 منجر به دقت بیشتر تولیدکنندگان و آلودگی کمتر محصولات لبنی به این توکسین خواهد شد (۲۱ و ۲۲).

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله وظیفه خود می‌دانند از معاونت فن‌آوری تحقیقات و به ویژه از مرکز تحقیقات بهداشتی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) برای تصویب و حمایت مالی این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی نمایند.

نمونه (۶۹٪) آلودگی به AFM1 را مورد تأیید قرار دادند (۱۲) و در برزیل Prado و همکاران (۲۰۰۰) با بررسی ۷۵ نمونه پنیر جمع‌آوری شده از منطقه Minasgerais، آلودگی در ۷۴/۷٪ از نمونه‌ها با غلظت ۶۹۲-۲۰۰ نانوگرم در کیلوگرم را ثابت نمودند (۱۳). میزان آلودگی و غلظت آفلاتوکسین در پنیرهای مورد بررسی در این مطالعات بیشتر از میزان آلودگی پنیرهای مورد بررسی در مطالعه ما بوده است که نشان می‌دهد این مشکل تنها به کشور ما محدود نمی‌شود و حتی در کشورهای پیشرفته‌ای چون آلمان هم این مشکل بهداشتی وجود دارد. مقایسه نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات انجام شده در کشورهای چین ایتالیا، اسلونی، ترکیه و نیجریه نشان از آلودگی بیشتر پنیرهای مصرفی در کشور ما دارد زیرا بر اساس مطالعه Finoli و همکاران (۱۹۹۶)، Barbieri و همکاران (۱۹۹۴)، Cirilli و همکاران (۱۹۹۸) و Montagna و همکاران (۲۰۰۸) در ایتالیا، درصد آلودگی نمونه‌های پنیر آزمایش شده در این کشور به ترتیب ۸، ۹، ۱۸/۲، ۱۶/۶٪ بوده است (۱۷-۱۴). Tokar و Vengust (۲۰۰۸) در اسلونی نیز نشان دادند که تنها در ۱۵٪ از نمونه‌های مورد آزمایش آلودگی به AFM1 وجود داشته است و Gurbay و همکاران (۲۰۰۶) در ترکیه میزان آلودگی به AFM1 در ۲۸/۲٪ از نمونه‌های مورد مطالعه را تأیید نمودند (۱۹ و ۱۸). در مطالعه Atanda و همکاران (۲۰۰۷) در نیجریه که بر روی نوعی پنیر محلی در ایالات ogun نیجریه انجام شد نتایج مشابهی را به دست آمده است (۲۰). اگرچه درصد آلودگی به AFM1 در این کشورها پایین‌تر از کشور ما است با این وجود نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که موضوع آلودگی به AFM1 یک مشکل بهداشتی در بسیاری از کشورهای جهان است و آلودگی شیر و فرآورده‌های آن به آفلاتوکسین M1 که جزء پر مصرف‌ترین مواد غذایی بوده و مصرف آنها توسط متخصصین تغذیه تأکید گردیده است، می‌تواند بهداشت و سلامت مصرف‌کنندگان خصوصاً کودکان، سالمندان و بیماران را به خطر بیندازد. مطالعات انجام شده در سال‌های اخیر نیز تأییدکننده این موضوع است و نشان می‌دهد که شیرهای پاستوریزه، شیرهای استریلیزه شده با دمای بالا و نیز پنیرهای سفید تولید شده در ایران دارای آلودگی به آفلاتوکسین M1 هستند (۲۱ و ۲۲).

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد درصد آلودگی فرآورده‌های لبنی (به ویژه پنیر) به آفلاتوکسین M1 نسبت به سال‌های گذشته در کشور به میزان قابل توجهی کاهش یافته است که

## References

- 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;116(3):346-9.
- 2- Zinedine A, Gonzalez-Osnaya L, Soriano JM, Moltó JC, Idrissia L, Mañesb J. Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *Int J Food Microbiol* 2007;114(1):9-25.
- 3- Kamkar A, Jahed Khaniki Gh, Bokai S, Hosseini H. Aflatoxin M1 and Iranian white cheese. *Journal of Faculty of Veterinary, Tehran University*. 2006;61(3):201-6.
- 4- 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):257-64.
- 5- Polychronaki N, West RM, Turner PC, Amra H, Abdel-Wahhab M, Mykkänen H, et al. A longitudinal assessment of aflatoxin M1 excretion in breast milk of selected Egyptian mothers. *Food Chem Toxicol* 2007;45(7):1210-5.
- 6- Fallah AA. Aflatoxin m1 contamination in dairy products marketed in Iran during winter and summer. *Food control* 2010;21(11):1478-81 .
- 7- Karim G, Kamkar A, Aliabadi FS, Khaksar R. Fate of aflatoxin M1 in Iranian white cheese processing. *Food Chem Toxicol* 2008;46(6):2236-38.
- 8- Fallah AA, Jafari T, Fallah A, Rahnema M. Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food Chem Toxicol* 2009;47(8):1872-5.
- 9- Rahimi E, Karim G, Shakerian A. Occurrence of aflatoxin M1 in traditional cheese consumed in Esfahan, Iran. *World Mycotoxin Journal* 2009;2(1):91-4.
- 10- Aycicek H, Yarsan E, Sarimehmetoglu B, Cakmak O. Aflatoxin M1 in white cheese and butter consumed in Istanbul, Turkey. *Vet Hum Toxicol* 2002;44(5):295-6.
- 11- Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M1 in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit Contam* 2004;21(6):592-7.
- 12- Kiermeier F, Weiß G, Behringer G, Miller M. On the presence and the content of aflatoxin M in commercial cheese samples *Z Lebensm Unters Forsch* 1977;163(4):268-71. (Article in German)
- 13- Prado G, Oliveira MS, Pereira ML, Abrantes FM, Santos LG, Veloso T. Aflatoxin M1 in samples of "Minas" cheese commercialized in the city of Belo Horizonte-Minas Gerais/Brazil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 2000;20(3):398-400.
- 14- Finoli CA, Bellavita VM, Cerruti G. Sulla Presenza di aflatoxina M1 in Latte a derivati. *Ltte Latticini conserve Anim* 1996;8(9):611-25.
- 15- Barbieri G, Bergamini C, Ori E, Resca P. Aflatoxin M1 in Par-meason cheese HPLC determination. *J Food Sci* 1994;59(6):1313-31.
- 16- Cirilli G, Aldana G, Cirilli GS. Contamination of dairy product by hydroxy aflatoxins. *Microbiol Aimenta Nutr* 1988;6:217-9 .
- 17- Montagna MT, Napoli C, De Giglio O, Iatta R, Barbuti G. Occurrence of aflatoxin M1 in dairy products in southern Italy. *Int J Mol Sci* 2008(9):2614-21.
- 18- Tokar KG, Vengust A. The presence of yeasts, moulds and aflatoxin M1 in raw milk and cheese in Slovenia. *Food Control* 2008;19:570-7.
- 19- Gurbay A, Engin AB, Caglayan A, Shahin G. Aflatoxin M1 levels in commonly consumed cheese and yogurt samples in Ankara, Turkey. *Ecology of Food and Nutrition* 2006;45(6):449-59.
- 20- Atanda OO, Oguntubo A, Adejumo O, Ikeorah H, Akpan I. Aflatoxin M1 contamination of milk and ice cream in Abeokuta and Odeda local governments of Ogun State, Nigeria. *Chemosphere* 2007;68:1455-8.
- 21- 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* 199;33(3):173-9.
- 22- Fallah AA. Assessment of aflatoxin m1 contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. *Food chem Toxicol* 2010;48(3):1872-5.
- 23- Imtiaz H, Anwar J, Rafiq Asi M, Munawara MA, Kashif M. Aflatoxin m1 contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food control* 2010;21(2):122-4.

## Aflatoxin M1 Contamination of Pasteurized Cheese Produced by Two Dairy Factories in Tehran, Assessed by ELISA Technique

Tavakoli HR<sup>1</sup> (PhD), Riazipour M<sup>\*2</sup> (PhD), Rafati H<sup>3,4</sup> (PhD), Naghavi S<sup>1</sup> (BS), Rostami H<sup>1</sup> (BS), Saghazadeh M<sup>5</sup> (PhD)

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

<sup>2</sup>Therapeutic Microbial Toxin Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Department of Statistics and Epidemiology, School of Health, Baqiyatallah University of Medical Sciences <sup>4</sup>Trauma  
Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>5</sup>Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Qom Branch, Iran

Received: 31 May 2010, Accepted: 22 Dec 2010

### Abstract

**Introduction:** Aflatoxin M1 (AFM1) in one of the most common mycotoxins that can often be found in dairy products and has some serious complications. The aim of this study is to assess AFM1 contamination of pasteurized cheese produced by two dairy factories in Tehran.

**Methods:** In this cross-sectional study, 100 samples of pasteurized cheese produced by two factories were gathered in both winter and summer seasons and examined by ELISA technique for AFM1 contamination. Data were analyzed by SPSS using T-test and Man-withiney statistical tests.

**Results:** AFM1 was found in 62% of examined samples. The average contamination level was 53.39 ( $\pm$ 51.90) ng/kg. AFM1 contamination of six samples (9.3% of positive cases) exceeded Iran's standard level (200 ng/kg). Mean contamination of AFM1 in summer cheese samples was significantly lower than winter samples ( $p < 0.03$ ).

**Conclusion:** The finding of this study showed that produced cheese in Iran have high contamination of AFM1 which can threaten public health. Better control of animal feeding and dairy factories can reduce AFM1 contamination in dairy products.

**Key words:** Aflatoxin M1; Pasteurized Cheese; Dairy Products; Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Hakim Research Journal 2011; 13(4): 219- 225.

\*Corresponding Author: Therapeutic Microbial Toxins Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Mollasadra St, Tehran, Iran. Tel: +98- 912- 3845823, Email: [mriazipour@yahoo.com](mailto:mriazipour@yahoo.com)